



FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO

Melatonina y Cáncer: ensayos clínicos

Melatonin and Cancer: clinical trials

Autor/a: Andrea González Rayo

Director/es: Samuel Cos Corral

Santander, Junio 20 21

Agradecimientos

Quisiera expresar mi agradecimiento al Dr. Samuel Cos Corral, director de este TFG, por su tiempo, orientación, dedicación e implicación durante la realización de este trabajo.

También agradecer a las grandes amistades que la medicina me ha dado, por compartir conmigo estos 6 años de carrera, siendo un pilar fundamental siempre que necesitaba. Sin olvidar, por supuesto, a mis amigos de la infancia, los de siempre, quienes desde la distancia han estado apoyándome y dándome fuerzas desde el primer día.

Por último, agradecer a mi familia, ya que sin la oportunidad que me brindaron no hubiera llegado hasta aquí.

ÍNDICE

RESUMEN/ABSTRACT	1
OBJETIVOS	2
METODOLOGÍA.....	2
INTRODUCCIÓN	3
Glándula pineal	3
Síntesis de melatonina	3
Secreción y transporte de melatonina	4
Metabolismo	4
REGULACIÓN DE LA SÍNTESIS DE MELATONINA.....	5
MECANISMOS DE ACCIÓN	6
1. Acciones mediadas por receptores:	6
2. Acciones no dependientes de receptores	7
ACCIONES DE LA MELATONINA	8
1. Ciclos estacionales y ritmos circadianos.....	8
2. Temperatura corporal.....	9
3. Sueño.....	9
4. Reproducción	9
5. Sistema cardiovascular.....	10
6. Sistema inmune y antioxidante	10
7. Otras acciones	10
ACCIONES DE LA MELATONINA EN DIFERENTES TIPOS DE TUMORES	10
MECANISMOS DE LOS EFECTOS ANTITUMORALES DE LA MELATONINA	11
1. Acciones antiestrogénicas de la melatonina	11
1.1 Regulación de la activación del receptor de estrógenos.....	11
1.2 Modulación de los enzimas involucrados en la síntesis de estrógenos.....	11
2. Modulación del ciclo celular: proliferación, diferenciación y apoptosis	12
3. Inhibición de la actividad de la telomerasa	13
4. Efectos antioxidantes.....	13
5. Antiangiogénesis	14
6. Prevención de la disrupción de los ritmos circadianos	15
7. Inhibición de la metástasis.....	15
8. Efectos inmunoestimulantes	16
9. Factores epigenéticos	16
10. Transporte y metabolismo de ácidos grasos	16

ENSAYOS CLÍNICOS	16
CONCLUSIONES	49
BIBLIOGRAFÍA	51

RESUMEN

La melatonina es la principal hormona sintetizada y secretada por la glándula pineal, en función del ciclo luz/oscuridad, dando lugar ello a una de sus funciones más importantes, la regulación de los ritmos circadianos. Sin embargo, otra de las acciones importantes descritas de la melatonina es sus efectos oncostáticos, inhibiendo la génesis y desarrollo de una gran variedad de tumores, particularmente hormonodependientes. El presente trabajo describe y efectúa una revisión sistemática de ensayos clínicos en los que se utiliza melatonina, observándose algunos de los principales efectos antitumorales ejercidos por esta hormona, que incluye: acciones antiestrogénicas; modulación del ciclo celular; efectos antioxidantes; antiangiogénesis y efectos inmunoestimuladores. En la gran mayoría de los ensayos clínicos, la melatonina presenta efectos beneficiosos sobre los pacientes con cáncer avanzado, como aumento de su supervivencia, aumento de la tasa de regresión tumoral, control sobre el avance de la enfermedad y disminución de los efectos adversos provocados por otros tratamientos como la radioterapia o quimioterapia.

Palabras clave: melatonina, ensayos clínicos, cáncer, acciones antitumorales.

ABSTRACT

Melatonin is the main hormone synthesized and secreted by the pineal gland, depending on the light/dark cycle, leading to one of the most important actions carried out by melatonin, the circadian rhythms' regulation. However, another of the important actions described by melatonin is its oncostatic effects, inhibiting the genesis and development of a wide variety of tumors, particularly hormone-dependent. The present work describes and carries out a systematic review of clinical trials in which melatonin is used, observing some of the main antitumor effects exerted by this hormone, which includes: antiestrogenic actions; cell cycle modulation; antioxidants effects; antiangiogenesis and immunostimulatory effects. In the vast majority of clinical trials, melatonin achieves beneficial effects on patients with advanced cancer, such as increased survival time, increased the tumor regression rate, control over the progression of the disease and decreased the adverse effects caused by other treatments such as radiation therapy or chemotherapy.

Key words: melatonin, clinical trials, cancer, antitumoral actions.

OBJETIVOS

El objetivo principal de este trabajo es llevar a cabo una revisión sistemática de ensayos clínicos con la hormona pineal, melatonina, que permita conocer el papel de esta hormona como adyuvante a diferentes tratamientos anticancerígenos sobre diferentes tipos tumorales.

Para ello, en primer lugar, realizaremos una breve introducción de la fisiología de la glándula pineal y de su principal producto de secreción, la melatonina (mecanismo de acción, síntesis, secreción y metabolismo) y, a continuación, revisaremos detalladamente los diferentes ensayos clínicos que utilizan melatonina en pacientes con cáncer, sola o asociada a otros tratamientos antitumorales.

METODOLOGÍA

Para el desarrollo del presente trabajo se ha realizado una revisión actualizada sobre ensayos clínicos, para los cuales se ha empleado la base de datos PubMed. Muchos de estos artículos han sido extraídos de publicaciones de revistas científicas de alto impacto, como son *Journal of Pineal Research*, *Cancer Research* o *New England Journal of medicine*.

Para efectuar esta búsqueda bibliográfica se han empleado las palabras clave: melatonina, cáncer, glándula pineal, acciones de la melatonina, ensayos clínicos.

INTRODUCCIÓN

La melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina) es una molécula presente en todos los organismos. Se trata de una indolamina producida principalmente en la glándula pineal y secretada directamente a la sangre, actuando como una hormona [1].

La glándula pineal o epífisis es un órgano situado en el cerebro donde actúa como transductor neuroendocrino incorporando señales neurales que provienen de la retina, las cuales obedecen a su vez tanto a la duración como intensidad de la luz ambiental. Como respuesta a ello, esta glándula sintetiza y libera señales hormonales facilitando información sobre el ciclo luz/oscuridad a todas las células del organismo, sincronizando así multitud de ritmos circadianos [2].

Glándula pineal

La melatonina se sintetiza en la glándula pineal, en los pinealocitos, los cuales constituyen el 80% de las células de la glándula. El resto está constituido por vasos, terminaciones nerviosas y glía [2].

La glándula pineal está inervada en su mayoría por fibras simpáticas noradrenérgicas originadas en los ganglios cervicales superiores (GCS). Cuando la luz es captada por las células ganglionares de la retina, la información llega hasta el núcleo supraquiasmático del hipotálamo a través del tracto retinohipotalámico, para posteriormente enviar esta información a las neuronas postganglionares de los GCS, las cuales llegarán a la glándula pineal a través del nervio coronario [3]. Además, la glándula pineal tiene inervación de origen central a través de la habénula, una escasa inervación parasimpática y actualmente se ha visto una inervación de tipo peptidérgico encargada de controlar la secreción glandular [2].

Síntesis de melatonina

La principal función de la glándula pineal es la síntesis de indolaminas y, entre ellas, la melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina), producida en función del ciclo luz/oscuridad [2].

La síntesis de melatonina comienza con la captación de triptófano por los pinealocitos. Éste se convierte en 5-hidroxitriptófano por la enzima triptófano-hidroxilasa y, posteriormente, gracias a la enzima L-aminoácido aromático descarboxilasa, da lugar a la 5-hidroxitriptamina, más conocida como serotonina [2,3]. A partir de aquí, la serotonina es acetilada por la enzima serotonina-N-acetil-transferasa (SNAT) a N-acetilserotonina y ésta a su vez, gracias a otra enzima, la hidroxindol-O-metiltransferasa (HIOMT) que cede el grupo metilo procedente de la S-adenosimetionina a la posición 5-hidroxilo de la N-acetilserotonina, produce finalmente la melatonina [2]. El enzima HIOMT puede estar presente en otros órganos como la retina, el tracto gastrointestinal y las glándulas lacrimales, siendo también capaces de producir melatonina. Sin embargo, se ha visto que la producción extrapineal de melatonina tiene una acción únicamente local, siendo su contribución a los niveles plasmáticos de melatonina baja [2].

Secreción y transporte de melatonina

La melatonina pineal es secretada a la sangre por difusión simple, llegando a diversos compartimentos del organismo como el LCR. Además, la melatonina no se almacena, por lo que la variación diaria de los niveles hormonales en sangre nos da una idea de la secreción glandular [2].

La melatonina se transporta en plasma unida a la albúmina en un 80%, estando el 20% restante en forma libre. [2]

Metabolismo

La vida media de la melatonina después de ser secretada a la sangre es de unos 30 minutos [3].

La melatonina se metaboliza tanto en el hígado, donde acontece la mayor parte (85-90%), como en el SNC. Patologías hepáticas, como por ejemplo la cirrosis, pueden alterar las tasas de aclaramiento de melatonina [3].

En el hígado, la melatonina es hidroxilada en posición 6 formando un compuesto inactivo, la 6-hidroximelatonina (Figura 1). Éste se conjuga posteriormente con ácido sulfúrico (70-80%) o glucurónico (5-30%) para después excretarse en orina y heces principalmente [2]. Tanto los niveles plasmáticos de 6-hidroximelatonina como de su principal metabolito urinario, la 6-sulfatoximelatonina, se correlacionan muy bien con los niveles diarios de melatonina en sangre y, por tanto, de su producción, así como del pico nocturno de la misma [2]. Por el contrario, en el SNC se metaboliza melatonina formando N-formil-5-metoxiquinurenamina y N-acetil-5-metoxiquinurenamina [2].

Finalmente, una pequeña cantidad (<1%) de melatonina circulante es eliminada de forma libre en la orina [2].

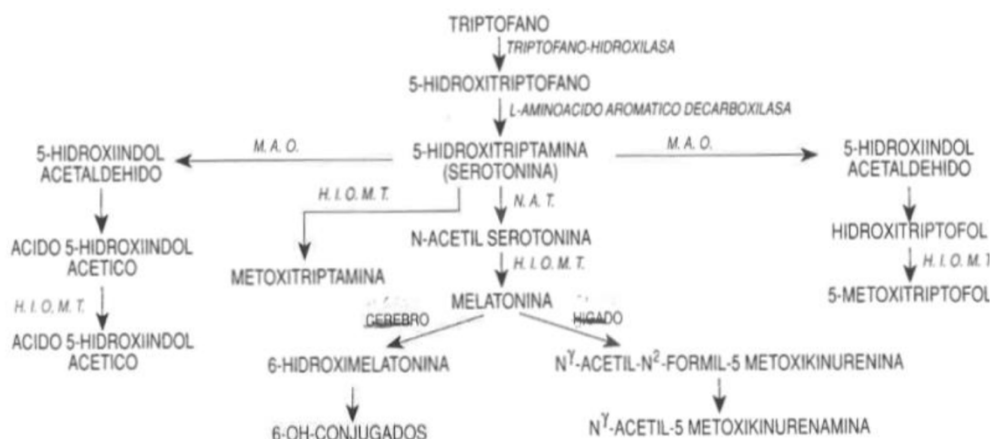


Figura 1. Vías de síntesis y metabolización de la melatonina. HIOMT: Hidroxindol-O-metiltransferasa; NAT: Serotonina N-acetiltransferasa; MAO: Monoamino oxidasa. [2]

REGULACIÓN DE LA SÍNTESIS DE MELATONINA

La síntesis de melatonina se realiza siguiendo un patrón circadiano. Durante el día, la síntesis de melatonina disminuye, aumentando ésta en las horas de oscuridad [2]. Así, las concentraciones plasmáticas de melatonina aumentan a lo largo del día, alcanzando su máximo a media noche, momento en el cual comienzan a disminuir [3]. Por tanto, la producción de melatonina sigue un ritmo paralelo al ciclo luz/oscuridad, proporcionando al organismo información acerca de la duración del fotoperiodo [2].

Los estímulos necesarios para sintetizar la melatonina proceden, principalmente, de estímulos lumínicos (regulación neural) y, secundariamente, existe una regulación hormonal desde los tejidos periféricos [2].

- Regulación neuronal: Los estímulos fotosensoriales son percibidos por los fotorreceptores de la retina y transmitidos, a través del tracto retinohipotalámico, a los núcleos supraquiasmáticos. A partir de aquí, la información llega a los ganglios cervicales superiores (GCS) por una vía multisináptica (Figura 2). Finalmente, la información llega desde los GCS a la glándula pineal gracias a las fibras postganglionares noradrenérgicas [2]. Los estímulos luminosos inhiben la actividad de las neuronas ganglionares, mientras que la interrupción de este estímulo provoca una activación neuronal rápida lo que da lugar a la liberación de noradrenalina en las terminaciones simpáticas postganglionares [2].

La noradrenalina se une a receptores $\beta 1$ adrenérgicos en los pinealocitos provocando un aumento de potencial de membrana, activando a la adenilato ciclasa lo que aumenta a su vez el AMPc, dando lugar a la síntesis de RNA y proteínas y de las enzimas SNAT y HIOMT, encargadas finalmente de la producción de melatonina [2]. El número de receptores β -adrenérgicos varía en función del ciclo día/noche, aumentando durante la fase de luz y disminuyendo a lo largo de la noche [2].

Además, este sistema se ha ampliado a un modelo más complejo de síntesis de melatonina que presenta:

- Presencia de receptores $\alpha 1$ postsinápticos que favorecen el efecto β -adrenérgico mediante el aumento de la actividad de Ca^{2+} y la activación de protein-quinasa C (CPK) y prostaglandinas. Esto estimula a la adenilato-ciclasa, aumentando el AMPc y la síntesis de SNAT [2,3].
 - Inervación pineal central formado por terminaciones peptidérgicas, colinérgicas, aminoacidérgicas y un control paracrino formado por terminaciones gabaérgicas [2].
- Regulación hormonal: la glándula pineal presenta retroalimentación hormonal por los distintos órganos sobre los que actúa. Esta regulación hormonal puede llevarse a cabo de forma directa, mediante receptores específicos en los pinealocitos, o de forma indirecta. Algunas de las hormonas capaces de modificar la síntesis de melatonina por la glándula pineal son: estrógenos, progestágenos, andrógenos, prolactina, gonadotrofinas, somatostatina, entre otras [2]. Esta

modulación hormonal complementa a la neural, ya que sus efectos en la actividad pineal se superponen a los producidos por el ciclo luz/oscuridad [2].

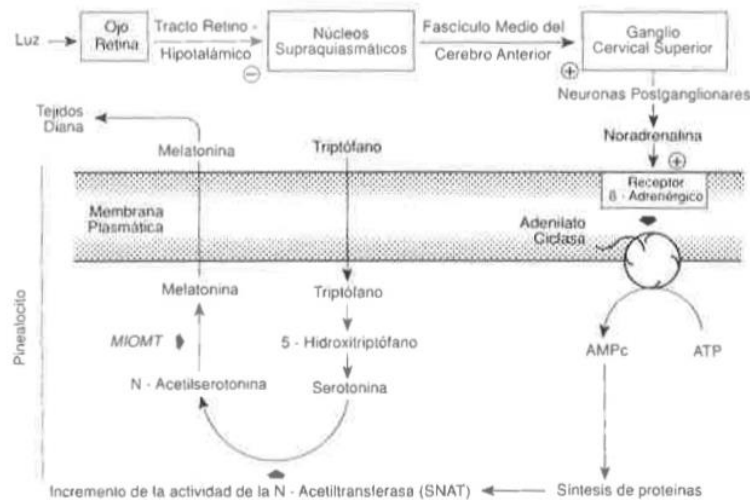


Figura 2. Vía a través de la cual la información luminosa regula la síntesis de melatonina en la glándula pineal [2].

Aunque en todos los seres vivos la secreción de melatonina obedece a un patrón circadiano, coincidiendo ésta con el periodo de oscuridad, hay algunas diferencias entre el comienzo del periodo de oscuridad y el inicio de la secreción de melatonina (Figura 3). Hay tres patrones diferentes, siendo el tipo II el que correspondería a los seres humanos (la melatonina aumenta gradualmente desde el comienzo de la fase de oscuridad, haciendo un máximo a la mitad de este periodo, para volver a valores diurnos en la transición oscuridad/luz) [2]. Así, la concentración plasmática de esta hormona varía entre el día (10-30 pg/ml) y la noche (100-200 pg/ml) produciéndose el pico secretor entre las 2 y las 6 de la mañana [2].

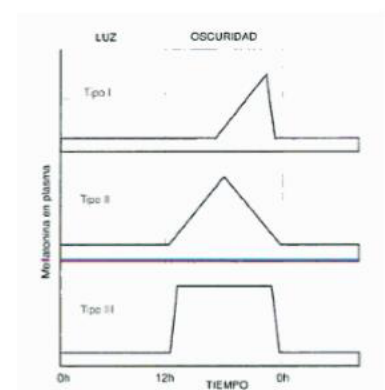


Figura 3. Patrones de secreción de la melatonina [2].

MECANISMOS DE ACCIÓN

Se han descrito diferentes mecanismos de acción de la melatonina, agrupados principalmente en dos grupos:

1. **Acciones mediadas por receptores:** éstos a su vez pueden clasificarse en receptores de membrana o receptores nucleares [4].
- Receptores de membrana: es a través de estos receptores dónde la melatonina ejerce sus principales acciones.

Se han identificado dos tipos de receptores de membrana en función de su localización y la afinidad ejercida por la melatonina sobre ellos. Así, distinguimos el receptor de membrana MT1 (rango picomolar) y el MT2 (rango nanomolar) (Figura 4). Son receptores de membrana que actúan acoplados a proteínas G,

principalmente inhibitoras, regulando segundos mensajeros como AMPc, GMPc, calcio, fosfolipasa A₂ y fosfolipasa C [2] [4].

Los receptores MT1 se encuentran principalmente en el núcleo supraquiasmático del hipotálamo, en la *pars tuberalis* de la hipófisis y en el área postrema, actuando sobre todo durante las horas de la mañana. Están implicados, por tanto, en la inhibición que ejerce la melatonina sobre la liberación de dopamina [2]. En cuanto a los receptores MT2, predominan en la retina, aumentando su número máximo en las últimas horas de luz coincidiendo con el momento de mayor sensibilidad del eje neuroendocrino para los efectos de la melatonina [2]. Se ha descrito un tercer subtipo de receptor, MT3 (aunque no se considera específicamente como receptor, sino como sitio de unión de la melatonina). Es una forma de quinona reductasa, un tipo de enzima implicada en reducir ciertos procesos citotóxicos, como por ejemplo, quimioterapias o apoptosis celulares [4].

TIPO	LOCALIZACIÓN	ESPECIFICIDAD	MECANISMO INTRACELULAR
MT1	NSQ, pars tuberalis, retina	Melatonina > 6-OH-melatonina >> N-acetilserotonina	Proteína G (Gi, G0). Inhibición de adenilato ciclasa
MT2	Hipotálamo, corteza cerebral, cerebelo, hipocampo.	Melatonina > N-acetilserotonina >> 6-OH-melatonina > serotonina	Ca ²⁺ , GMPc, AMPc, prostaglandinas
MT3	Glándula pineal	Melatonina >> N-acetilserotonina, serotonina >> 6-OH-melatonina	PI turnover (Gq/11)

Figura 4. Tipos de receptor, localización, especificidad y señales intracelulares para la melatonina en el SNC [2].

- Receptores nucleares: la melatonina también puede interactuar con el receptor nuclear ROR/RZR (receptor huérfano relacionado con el ácido retinoico/grupo de receptores del retinoides Z). Estos receptores regulan la expresión de ciertas enzimas antioxidantes a través de factores de transcripción intranucleares [4] [5].

2. Acciones no dependientes de receptores

La melatonina puede actuar a nivel intracelular con diversas proteínas citosólicas. Así, por ejemplo, se ha descrito que puede unirse a la calmodulina citosólica y, por lo tanto, afectar a la señalización del calcio y modular las proteínas estructurales del citoesqueleto [2]. También se ha descrito su interacción con otras proteínas citosólicas como la calreticulina, tubulina y proteína quinasa C [12] [13]. Todas estas proteínas participan en el metabolismo del calcio y en la modulación de la estructura del citoesqueleto, además, la interacción calreticulina-calmodulina se asocia a la regulación de diferentes hormonas en el núcleo celular.

En cuanto a las acciones de la melatonina independientes de los receptores, éstas incluyen sus propiedades antioxidantes y antiinflamatorias. La melatonina es capaz de eliminar radicales libres tanto de forma directa como indirecta, a través de la activación de otras enzimas antioxidantes. De esta forma, la melatonina protege del daño oxidativo al DNA [4]. Esto es especialmente importante, por ejemplo, para el correcto funcionamiento de la mitocondria, donde los radicales se forman constantemente como resultado de la respiración celular [4].

Además de esta función antioxidante, la melatonina regula las actividades de los complejos I y IV de la cadena respiratoria y protege al DNA mitocondrial de mutaciones y deleciones [4].

Otra acción no mediada por receptor es el papel que desempeña la melatonina en la regulación del sistema ubiquitina-proteasoma mediante el control de la degradación proteínica [4].

ACCIONES DE LA MELATONINA

1. Ciclos estacionales y ritmos circadianos

Se ha comprobado que, modificaciones en la duración del fotoperiodo respecto a las variaciones estacionales producen cambios opuestos en la secreción nocturna de melatonina por la glándula pineal. Así, cuando disminuye la duración del día (horas de luz), respecto a la noche, la secreción nocturna de melatonina aumenta [3].

En la Figura 5 podemos confirmar cómo alargando la duración del periodo noche y, por tanto, las horas de sueño (pasando de 8h en la fila superior a 14h en la inferior), el pico de melatonina es mayor. Así, la imagen muestra cómo la duración de la secreción de melatonina se alargó cuando se acortó el fotoperiodo. [3]

En cuanto a los ritmos circadianos (ritmos biológicos generados de forma endógena) [4], para la mayoría de las personas, tardan alrededor de 24h en completar un ciclo [6]. El sistema circadiano está formado por un reloj endógeno central, encargado de formar estos ritmos a partir de las señales procedentes del exterior. La principal señal sincronizadora es la luz. La luz es captada en la retina y llevada al reloj central, en el núcleo supraquiasmático del hipotálamo. [6] Una vez la luz llega al reloj central, éste envía una serie de estímulos a otros sistemas, como la glándula pineal, encargada de secretar la melatonina, entre otras sustancias [6].

Además de la glándula pineal, el sistema circadiano central actúa sobre otros muchos sistemas del organismo, como sistemas endocrinos, en el metabolismo, sobre procesos inflamatorios o incluso sobre comportamientos, como el sueño. Es por esto por lo que se cree que el ritmo de melatonina representa la sincronización del reloj circadiano central, al ser su secreción dependiente del SCN y del ciclo luz/oscuridad [6].

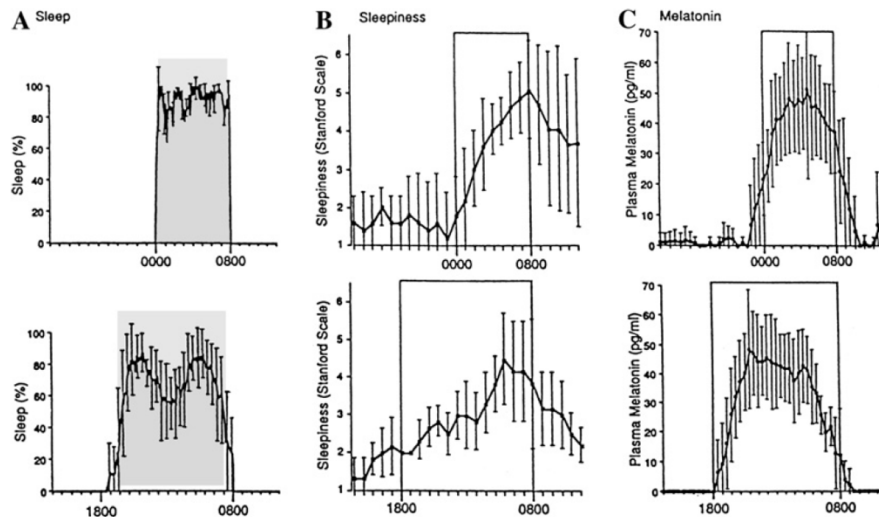


Figura 5. Duración de la fase del sueño nocturno (A), fase de aumento de somnolencia nocturna (B), secreción nocturna de melatonina (C). [3]

2. Temperatura corporal.

El pico de secreción de melatonina coincide con la bajada nocturna de temperatura corporal, por lo que se piensa que esto pueda estar en relación. Se ha visto que la administración exógena de melatonina produce una bajada de la temperatura central corporal, además de una mayor pérdida de calor distal. Incluso, se ha comprobado que la supresión de síntesis de melatonina en sujetos expuestos a contaminación lumínica nocturna provoca un aumento de la temperatura corporal y se revierte al administrarla exógenamente. [3]

3. Sueño

El efecto de la administración exógena de melatonina en pacientes con insomnio o dificultades para el mantenimiento del sueño ha sido ampliamente probado. Al administrar melatonina exógena a pacientes durante el día, coincidiendo con niveles endógenos bajos, produce en estos pacientes síntomas como somnolencia y propensión al sueño. En cambio, la administración de melatonina cuando los niveles endógenos son altos (pico secretor nocturno) no tiene ningún efecto en estos pacientes [3].

Por tanto, alteraciones en los niveles nocturnos de melatonina pueden asociarse con problemas relacionados con el sueño, como el insomnio de conciliación o de mantenimiento.

4. Reproducción

Hay una relación causal entre el inicio de la pubertad y el descenso en la secreción de melatonina. La melatonina regula el ciclo reproductivo actuando como anticonceptivo. Se ha comprobado que inhibe tanto la producción de FSH y LH, como de GNRH a nivel hipotalámico [3].

5. Sistema cardiovascular

El pico nocturno de melatonina produce una variación en el sistema cardiovascular respecto al día, que consiste en:

- Disminución de la presión arterial
- Disminución de la frecuencia cardíaca
- Disminución del gasto cardíaco
- Vasoconstricción periférica

Además, se ha visto un aumento del riesgo de infarto de miocardio a primera hora de la mañana coincidiendo con la disminución de la secreción de melatonina [3].

6. Sistema inmune y antioxidante

Debido a la presencia de receptores de melatonina en numerosos órganos linfoides y linfocitos, se han propuestos varios mecanismos de acción de la melatonina sobre el sistema inmune.

Estudios muestran que una depleción en los niveles de melatonina disminuye la actividad esplénica y tímica, provoca un aumento de la actividad de las células T-helper y la producción de IL-2, IL-6 e IL-12 y del interferón- γ , así como una inhibición de la acción inmunodepresiva de los corticoides [3].

Por otra parte, la melatonina actúa como un potente antioxidante, reduciendo las especies reactivas de oxígeno y nitrógeno de forma directa y activando otras enzimas con capacidad antioxidante de forma indirecta, a la vez que suprime enzimas prooxidantes [7].

7. Otras acciones

La melatonina también interviene en el metabolismo energético, incluyendo la regulación del peso corporal y la tolerancia a la glucosa, y en el metabolismo óseo, favoreciendo la formación de masa ósea.

Cuando la melatonina se une al receptor MT2 se produce la expresión de fosfatasa alcalina, BMP2, BMP6, osteocalcina y osteoprotegerina, a la vez que inhibe la vía del RANKL. Todo esto da lugar a un aumento de la osteogénesis y una disminución de la osteolisis [8].

ACCIONES DE LA MELATONINA EN DIFERENTES TIPOS DE TUMORES

Se ha estudiado el efecto de la melatonina en diversos tipos de tumores, como cáncer colorrectal, hepatocarcinoma, melanoma, cáncer de mama, ovario, etc. En todos ellos el estudio realizado *in vitro* ha llevado a una conclusión: la melatonina tiene la capacidad de inhibir la proliferación celular y de inducir apoptosis en la mayoría de las células tumorales, así como reducir la carcinogénesis y el crecimiento tumoral [9].

MECANISMOS DE LOS EFECTOS ANTITUMORALES DE LA MELATONINA

1. Acciones antiestrogénicas de la melatonina

1.1 Regulación de la activación del receptor de estrógenos

Esta acción es especialmente importante para los tumores hormono-dependientes, como el cáncer de mama, por ejemplo.

La melatonina actúa como modulador selectivo del receptor de estrógenos (SERM). Para llevar a cabo su acción antiestrogénica, la melatonina se une al receptor específico MT1 (presente en las células tumorales mamarias MCF-7), activándolo. El receptor de membrana MT1 está unido a proteínas G y su activación disminuye la actividad de la adenilato ciclasa, disminuyendo así el cAMP. En las células MCF-7, los estrógenos aumentan el cAMP, aumentando de esta forma la expresión del receptor de estrógenos α . Por tanto, la melatonina, al disminuir el cAMP, lo que provoca es una disminución de la expresión del receptor de estrógenos α , evita la unión del complejo receptor de estrógenos-estrógenos al sitio de unión en el ADN y, así, una disminución de la expresión de proteínas, entre ellas proteínas mitógenas y la proteína antiapoptótica BCL-2.

Además, existe otro mecanismo en el que la unión de calmodulina con el complejo receptor de estrógenos-estrógenos facilita su unión al ADN y la expresión de las proteínas antes mencionadas. La melatonina puede actuar también a este nivel, inhibiendo a la calmodulina y, por tanto, esta vía. [9]

1.2 Modulación de los enzimas involucrados en la síntesis de estrógenos

La síntesis de estrógenos se lleva a cabo a partir de un precursor, la dehidroepiandrosterona y dehidroepiandrosterona sulfato. Gracias a la acción de la aromatasa P450, estos precursores son transformados en estrona o bien, en androstenediol o testosterona por la enzima de la familia 17 β -hidroxiesteroide deshidrogenasa (17 β -HSD), concretamente 17 β -HSD tipo 1. Esta enzima, además, regula la conversión directa de estrona en estradiol. La isoforma 17 β -HSD tipo 2, cataliza la formación de esteroides de baja actividad [9].

Hay otras enzimas como las sulfotransferasas (EST), encargadas de inactivar a la estrona o el estradiol al añadir un grupo sulfato. Por el contrario, las sulfatasas (STS) hidrolizan los grupos sulfatos de la estrona o el estradiol, activándolas. [9]

En las células tumorales, especialmente mamarias, existe una desregulación de estos enzimas respecto al tejido mamario normal. Se produce un aumento de la formación de estradiol por:

- Aumento de la actividad de la aromatasa, favoreciendo la conversión de andrógenos a estrógenos [9].
- Aumento de expresión de sulfatasas (STS), activando así a la estrona y el estradiol [9]
- Aumento de 17 β -HSD1 y disminución de 17 β -HSD2 [9].

- Disminución de las enzimas estrógeno sulfotransferasas (EST), encargadas de inactivar mediante la adición de un grupo sulfato a la estrona y el estradiol [9].

La melatonina es capaz de actuar como modulador selectivo de los enzimas estrogénicos (SEEM) al inhibir la expresión de la aromatasa P450, la estrógeno sulfatasa y de la enzima 17 β -HSD1 en las células tumorales. De esta forma, la balanza se declina hacia la producción de estrógenos de baja actividad [9].

Por tanto, la melatonina es capaz de actuar tanto como SERM y como SEEM en las células MCF-7 a través de su receptor específico (MT1) y así llevar a cabo las acciones antiestrogénicas en el tratamiento de tumores hormono-dependientes. [9]

2. Modulación del ciclo celular: proliferación, diferenciación y apoptosis

El crecimiento tumoral se mide por la capacidad de proliferación de las células tumorales, así como por su capacidad para eludir la apoptosis.

Entre otras muchas acciones, la melatonina participa en el ciclo celular, controlando la proliferación tumoral. Actúa en diversos tipos tumorales, como en las células tumorales mamarias MCF-7, células mieloides HL-60 y en las células HepG2 presentes en el hepatocarcinoma aumentando la duración del ciclo, extendiendo la fase G1 y, por tanto, retrasando la entrada de la célula en la fase S o, también directamente, deteniendo a la célula en la fase G2/M. Así, de esta forma, la melatonina disminuye la proliferación celular e, incluso, permite la reparación del ADN al aumentar la expresión de p53 y p21 [9].

En cuanto a la diferenciación celular, ya sabemos que los tumores bien diferenciados tienen mejor pronóstico que aquellos con células tumorales indiferenciadas, los cuales, además, se comportan de manera más agresiva. La melatonina, mediante su acción en el ciclo celular, antes comentada, promueve la diferenciación celular en diferentes líneas celulares tumorales entre las que se encuentran tumores como el neuroblastoma, cáncer de próstata, células MCF-7 en cáncer de mama. Mediante el retardo de la entrada de la célula en la fase S, la melatonina consigue mantener la diferenciación celular con todo lo que ello supone para la supervivencia y la calidad de vida del paciente [9].

Por último, aunque la melatonina protege a las células de la apoptosis, se ha visto que en algunas líneas tumorales, como en el cáncer de mama, en linfomas, cáncer colorrectales o hepatocarcinomas, por ejemplo, es capaz de inducir la apoptosis, disminuyendo el crecimiento tumoral [9]. La apoptosis es llevada a cabo fundamentalmente por caspasas, una familia de enzimas perteneciente al grupo de las cisteín-proteasas, caracterizadas por presentar un residuo de cisteína que media la ruptura de otras proteínas. La proteína P53, antes comentado, es un supresor tumoral, encargada de la proliferación celular y de inducir apoptosis en líneas tumorales. Además, existen otras proteínas pro-apoptóticas, como Bax y Bcl-2. [9] La acción antiapoptótica de la melatonina consiste en el aumento de la expresión de P53 y P21 en diversas líneas celulares tumorales. Así, por ejemplo, en el hepatocarcinoma la melatonina actúa a nivel del citocromo C, aumenta la expresión de Bax y activa a las caspasas 8 y 9 [9].

En otros casos, la melatonina actúa junto con otros agentes antitumorales potenciando la apoptosis. Este sinergismo se produce en el sarcoma de Ewing, cuando la melatonina actúa junto con otros quimioterápicos, como la vincristina. La actuación conjunta de estos dos antitumorales produce la activación de las caspasas 3, 8 y 9 comparado con el tratamiento quimioterápico individual [9].

Por tanto, la melatonina actuando directamente en la detención del ciclo celular, disminuye tanto la proliferación como la diferenciación tumoral. Además, tiene acción apoptótica en diversas líneas celulares, activando a P53 y otras proteínas pro-apoptóticas, lo que ayuda en el tratamiento tumoral.

3. Inhibición de la actividad de la telomerasa

La acción de la telomerasa juega un papel importante en la progresión tumoral, al replicar el ADN en los extremos de los cromosomas (telómeros) y favorecer la elongación de éstos durante la división celular de forma indefinida. La actividad de la telomerasa se correlaciona muy bien con la expresión de la subunidad hTERT. En células normales, la melatonina aumenta la actividad de la telomerasa, como por ejemplo en la mucosa gástrica. Sin embargo, en las células tumorales, la melatonina es capaz de inhibir la expresión de la subunidad hTERT, y, por tanto, disminuir así la actividad de la telomerasa y la progresión tumoral. Además, hay un agonista del receptor de melatonina, CGP 52608, encargado de disminuir la expresión de hTERT [9].

En las células MCF-7 tumorales mamarias, los estrógenos pueden activar la actividad de la telomerasa mediante la existencia de un receptor de estrógenos en el promotor de hTERT. Es decir, la unión de estrógenos al promotor de hTERT activa a la telomerasa, favoreciendo el crecimiento tumoral. [9]

4. Efectos antioxidantes

El estrés oxidativo interviene en el inicio, la progresión y la metastatización neoplásica. El desbalance que se origina entre la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y su inactivación por enzimas antioxidantes resulta en el daño oxidativo del DNA.

La melatonina actúa contra las ROS directamente, eliminando radicales e indirectamente activando enzimas antioxidantes y reduciendo enzimas pro-oxidantes [9].

- Efecto directo de la melatonina sobre las ROS: es capaz de eliminar:
 - o Radical hidroxilo
 - o Radical anión superóxido
 - o Peróxido de hidrógeno
 - o Anión peroxinitrito
 - o Óxido nítrico
- Efecto indirecto de la melatonina:
 - o Favorece la síntesis o expresión de enzimas antioxidantes como son:
 - Glutathion peroxidasa
 - Glutatio reductasa

- Superóxido dismutasa
- Superóxido catalasa
- Inhibe la actividad de enzimas pro-oxidativas, como por ejemplo la óxido nítrico sintasa.

Se ha visto, especialmente, la acción antioxidante de la melatonina en tumores mediados por estrógenos. Los estrógenos, además de por su efecto directo sobre la proliferación celular, participan en la carcinogénesis debido a la acción pro-oxidante de sus metabolitos. El citocromo P450 es el encargado de metabolizar los estrógenos en productos hidroxilados, que más tarde son oxidados dando lugar a la formación de ROS. La melatonina actuaría sobre esta oxidación, impidiéndola y evitando el daño oxidativo al DNA. [9]

Además, la melatonina puede utilizarse en adyuvancia a la quimioterapia y radioterapia, ya que éstas al actuar inducen la formación de ROS, pudiendo ser la causa de los efectos adversos de estas terapias. Así, se ha demostrado que la melatonina, por su efecto antioxidante, reduce la neurotoxicidad, mielosupresión y otros efectos secundarios en pacientes tratados con quimioterapia en diversos tipos de tumores [9].

5. Antiangiogénesis

Los tumores, para crecer, necesitan un mayor aporte de oxígeno y nutrientes que las células normales. Para que estas necesidades se vean satisfechas, es necesario la creación de nuevos vasos (y, de esta manera, un mayor aporte de sangre) que ayuda a las células tumorales a desarrollarse.

La angiogénesis es un proceso favorecedor de la proliferación tumoral mediado por diversos factores. La hipoxia es el desencadenante principal, ya que promueve la expresión del factor inducible por hipoxia (HIF), responsable, a su vez, de la expresión del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), la anhidrasa carbónica IX, el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y el factor de crecimiento tumoral alfa (TGF- α) [9].

VEGF es una molécula pro-angiogénica, principal encargada de la formación de nuevos vasos por acción directa sobre el endotelio vascular. Esta molécula se encuentra elevada de forma anormal en pacientes con cáncer [9].

El papel antiangiogénico de la melatonina es ejercido mediante la disminución de los niveles de VEGF y la inhibición de otros factores de crecimiento tumoral, como el factor de crecimiento insulínico (IGF) o el factor de crecimiento epidérmico (EGF), también implicados en la angiogénesis tumoral. Además, debido a su acción antioxidante, la melatonina neutraliza las ROS, moléculas que participan en la expresión del HIF [9]. Así, la melatonina inhibe directamente la síntesis de VEGF e indirectamente la expresión de HIF, tanto en condiciones normales como en situación de hipoxia, imposibilitando el crecimiento tumoral y el desarrollo de metástasis, mejorando el pronóstico de la enfermedad [9].

6. Prevención de la disrupción de los ritmos circadianos

Como hemos dicho en apartados anteriores, la melatonina es la encargada de regular los ritmos biológicos, en el que influye el ciclo luz-oscuridad. Cuando la luz llega al núcleo supraquiasmático, en el hipotálamo, éste se encarga de enviar señales tanto neurológicas como hormonales (principalmente se encarga de la secreción de melatonina). Por tanto, la melatonina (debido a la transición del ciclo día-noche) es la principal sincronizadora del ritmo circadiano en humanos. [9]

Cambios en el patrón luz-oscuridad da lugar a cambios en la síntesis de melatonina, lo que lleva aparejado una alteración del ritmo biológico. Esto es conocido como cronodisrupción y se produce con la exposición a la luz durante la noche (LAN), situación que se da, por ejemplo, en los trabajadores a turnos. [9]

El buen funcionamiento del reloj central implica un buen control de la división celular así como la regulación de la proliferación celular. Existen unos reguladores circadianos (PER1, PER2, CRY1 y CRY2) ligados a una vía de señalización de daño del ADN. La expresión de estos reguladores produce una inhibición del crecimiento tumoral, favoreciendo la apoptosis. Sin embargo, la pérdida de expresión de estos genes por una alteración en el reloj central (debido a la exposición a LAN) fomenta el desarrollo tumoral. Esto se ha visto en algunos tipos tumorales, como por ejemplo próstata y mama [9]. De esta forma, el tratamiento con melatonina aumenta la producción de estos genes reguladores (PER1 y PER2), restaurando el normal funcionamiento y los cambios originados en las células tumorales. [9]

El Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer concluyó en el año 2007 que el trabajo a turnos podía considerarse como un carcinógeno humano (grupo 2A). Sin embargo, no todos los trabajos a turnos se asocian con el desarrollo de cáncer, sólo aquellos que implican una disrupción del ritmo circadiano (cronodisrupción) [10]. Experimentos en ratas han demostrado que la exposición a LAN, incluso con un patrón día-noche de 12:12 horas, produce una disminución de la síntesis de melatonina nocturna, lo que lleva a un aumento del crecimiento tumoral, directamente proporcional a la cantidad de luz recibida durante la noche [9].

En conclusión, la secreción fisiológica nocturna de melatonina es suficiente para actuar, en cierta medida, contra la proliferación celular y, además, la exposición nocturna a la luz produce una disrupción de los ritmos circadianos, con la consecuente disminución de melatonina por la glándula pineal, eliminando esta acción antioncogénica, favoreciendo el crecimiento tumoral, incluso a una velocidad mayor de lo normal. [9]

7. Inhibición de la metástasis

La melatonina, *in vitro*, disminuye la capacidad de invasión a distancia en las células MCF-7 tumorales mamarias e inhibe el efecto metastásico que produce el 17β -estradiol. Esta acción de la melatonina coexiste con el aumento de expresión de E-cadherina y β_1 -integrina (moléculas de adhesión celular), lo que explica la incapacidad o la disminución de desarrollar metástasis [9].

Esta acción está regulada por la unión de la melatonina a su receptor MT1 en las células tumorales. Por tanto, antagonistas de este receptor, como el luzindol, promueven la invasión tumoral a distancia [9].

8. Efectos inmunoestimulantes

La síntesis de melatonina no es exclusiva de la glándula pineal, puede secretarse también en otros tejidos, como los órganos linfoides (en la médula ósea, en el timo...). Se ha visto que la supresión de la síntesis de melatonina influye también directamente en la producción de células inmunes, tanto de la inmunidad celular como de la humoral [9].

La administración exógena de melatonina promueve la síntesis de células NK, monocitos, leucocitos, así como citoquinas, interleukinas, interferón-gamma y TNF α , potenciando el sistema inmune del paciente [9].

Por tanto, debido a que la activación del sistema inmune es una de las estrategias en el tratamiento contra el cáncer, la melatonina puede actuar a este nivel favoreciendo dicho proceso [9].

9. Factores epigenéticos

La melatonina actúa básicamente a dos niveles:

- Modificaciones en las histonas
- Metilación del DNA

La melatonina inhibe la p300 histona-acetil-transferasa en macrófagos. En consecuencia la melatonina inhibe la acetilación de p52 e inhibe los genes iNOS y COX-2 [9].

10. Transporte y metabolismo de ácidos grasos

La melatonina, al inhibir la captación de ácido linoleico por parte de las células tumorales, impide la conversión de éste al ácido 13-hidroxi octadecanoico, encargado de la activación del factor de crecimiento epidérmico (EGFR)/mitogen-activated protein kinase (MAPK). De esta forma, la melatonina suprime la activación del complejo EGFR/MAPK, inhibiendo así la proliferación tumoral. [9]

ENSAYOS CLÍNICOS

A continuación vamos a realizar una revisión de diversos ensayos clínicos, en los cuales se estudia la acción de esta hormona, sobre diferentes tipos tumorales, ya sea como tratamiento aislado o en combinación con otros tratamientos anticancerígenos, (como quimioterapia o radioterapia) y analizar los diferentes resultados con el objetivo de comprobarlo. Por otro lado, se incluyen artículos donde se constata la labor que desempeña la melatonina sobre los efectos secundarios provocados por estos tratamientos anticancerígenos.

Como punto de partida, en el año 1991, el Dr. Paolo Lissoni y su equipo [14] estudiaron la acción de la melatonina, tanto en la proliferación tumoral como en la calidad de vida del paciente, cuando todas las demás posibilidades terapéuticas se habían agotado.

Para ello, realizaron un ensayo clínico que incluía a 54 pacientes, los cuales estaban diagnosticados de tumor sólido con metástasis a distancia, sin respuesta al tratamiento antitumoral y con un índice de Karnofsky superior al 20%. De los 54 pacientes seleccionados, no todos presentaban el mismo tipo tumoral [14]. El 87% de los pacientes fueron tratados, antes de comenzar el ensayo clínico, con quimioterápicos y, todos ellos, presentaban una rápida progresión de la enfermedad previa al tratamiento con melatonina [14].

En cuanto a la dosis de melatonina, se comenzó por una dosis de 20 mg, intramuscular, durante 2 meses administrada a las 15:00 horas. Aquellos pacientes que respondieron a esta primera dosis de inducción se cambiaron a una fase de mantenimiento, en la cual se administró 10 mg de melatonina, vía oral, hasta que se constataste la progresión de la enfermedad [14]. Para demostrar la eficacia del tratamiento y la progresión de la enfermedad, se realizaron pruebas radiológicas, cada mes, a todos los pacientes, además de análisis de laboratorio para comprobar la posible toxicidad del tratamiento con melatonina [14].

Resultados

Con estos resultados (Figura 6), el equipo del Dr. Lissoni concluyó que el tratamiento con melatonina en pacientes con tumor metastásico controlaba, en un alto porcentaje de pacientes, la progresión tumoral y que, además, mejoraba la calidad de vida respecto a la que tenían previamente.

Histotype	n	Clinical response								Median duration of response, months	Median survival time, months
		CR		PR		SD		PD			
		n	%	n	%	n	%	n	%		
Lung cancer	18	0	0	0		11	62	7	38	4 (2–13)	6 (2–17)
Epidermoid	8	0	0	0		4	50	4	50	5 (4–6)	7,5 (3–17)
Adenocarcinoma	9	0	0	0		7	66	2	34	3 (2–13)	5 (3–15)
Small cell	1	0	0	0		0		1		–	2
Colorectal cancer	14	0	0	1	7	3	22	10	71	3,5 (2–5)	6 (3–14)
Other gastroenteric tumors	8	0	1	12	1	2	25	4	50	7,5 (3–22)	4 (2–25)
Breast cancer	3	0	0	0		2	67	1	33	2,5 (2–3)	4 (3–5)
Testis cancer	3	0	0	0		0		3	100	–	2
Miscellaneous	8	0	0	0		3	37	5	63	5 (4–6)	2 (1–14)

Figura 6. Respuesta al tratamiento con melatonina en 54 pacientes con metástasis de tumor sólido [14]. CR: respuesta completa; PR: respuesta parcial; MR: respuesta menor; SD: control de la enfermedad; PD: progresión tumoral.

Probablemente, esto último es debido a que no se observó toxicidad alguna con el tratamiento de melatonina, comparado con otros tratamientos antitumorales, como fármacos quimioterápicos. Finalmente, también se dedujo que, aquellos pacientes que no consiguieron un control del desarrollo tumoral bajo el tratamiento con melatonina, ésta no tuvo nada que ver con la mayor proliferación y el progreso de la enfermedad [14].

En este mismo año, el equipo del **Dr. González**, basándose en estudios previos llevados a cabo por el Dr. Lissoni [11] sobre el posible efecto antitumoral de la melatonina en pacientes con cáncer avanzado, inició un ensayo clínico con el que examinó el **efecto de la melatonina en pacientes con melanoma metastásico** [16].

Con este fin, se reclutaron a 42 pacientes con diagnóstico de melanoma que reunían una serie de criterios necesarios para su inclusión en el estudio [16]. En lo que respecta a la posología de la melatonina (Figura 7), se dosificó en 4 dosis, administradas cada 6h. Además, los pacientes se distribuyeron en grupos, de forma que a cada grupo se le suministrara una dosis determinada de melatonina (10 niveles en un rango comprendido entre 5 mg, la dosis más baja administrada, hasta 700 mg de melatonina) [16].

Total number of patients										
Dose (mg/m ² /day)	Treated	Experiencing toxicity	Fatigue		Nausea		Diarrhoea		Myalgia or arthralgia	
			I ^b	II	I	II	I	II	I	II
5	3	0								
10	3	2	2 ^c		1		1	1		
25	4	3	1				1	1		
50	3	2	1		1	1				
75	10	4	2	2	1					1
150	4	4	3		1		1		2	
250	3	3	2		1		1	1		
375	3	3	3		1			1		
525	3	1			1					
700	4	2	1		1					
Total	40	24	15	2	7	1	4	4	2	1

Figura 7. Resumen de la distribución y los principales efectos adversos relacionados con el tratamiento de melatonina [16].

Resultados

De los 42 pacientes seleccionados para el estudio, dos de ellos fueron excluidos, quedando una muestra de 40 pacientes. 29 pacientes fueron tratados previamente (inmunoterapia, quimioterapia o radioterapia) [16].

Al analizar los datos obtenidos (Figura 8), observaron que: 24 pacientes (alrededor del 60%) presentaban progresión de la enfermedad; 6 pacientes (15%) mostraban una respuesta parcial al tratamiento (12 semanas de tratamiento).

	n (%)	Time to response (weeks)	Duration (weeks)
		Median (range)	Median (range)
Total	40 (100)	—	—
Not evaluable	1 (2.5)	—	—
Early deaths	3 (7.5)	—	—
Progression	24 (60)	—	—
Stable	6 (15)	—	20 (6–66+)
Partial responses	6 (15)	12 (3–32)	33 (7–48+)

Figura 8. Respuesta al tratamiento con melatonina en 40 pacientes con melanoma metastásico [16].

En aquellos pacientes que respondieron al tratamiento, se observó que la media de respuesta era de 33 semanas; 6 pacientes presentaban una respuesta parcial de la enfermedad (duración media 20 semanas) y destaca en el estudio que, aquellos pacientes con una respuesta parcial o con control de la enfermedad, perteneciesen al grupo tratado con la dosis 75 mg (o mayor) de melatonina [16].

Por todo ello, se llegó a la conclusión de que la melatonina controlaba el pronóstico de la enfermedad en pacientes con melanomas avanzados, preferiblemente en aquellos tratados con una determinada dosis (75 mg o mayor), por lo que cabría la posibilidad de que existiera una relación dosis-respuesta [16]. Asimismo, al igual que los resultados obtenidos por el Dr. Lissoni [14] y comentado con anterioridad, la toxicidad generada por la melatonina era prácticamente nula, y los efectos secundarios producidos fueron mínimos [16].

Un año más tarde, de nuevo, el grupo a cargo del **Dr. Lissoni** realizó otro ensayo clínico utilizando la **melatonina como tratamiento alternativo a los cuidados paliativos en pacientes con cáncer avanzado**. Sin embargo, esta vez incluyó únicamente enfermos diagnosticados de **cáncer de pulmón no microcítico resistente al tratamiento con quimioterapia (cisplatino)** [15].

Teniendo en cuenta algunos de los efectos antitumorales de la melatonina, como su acción inmunoestimuladora o su capacidad citostática, el Dr. Lissoni diseñó este nuevo ensayo clínico para evaluar el efecto de la melatonina en el tiempo de supervivencia a 1 año en pacientes con cáncer de pulmón en comparación con tratamiento sintomático de soporte [15].

Para llevar a cabo el estudio, se seleccionaron a 63 pacientes, los cuales estaban diagnosticados de cáncer metastásico de pulmón resistente a una primera línea de quimioterapia con cisplatino. Se dividió a los pacientes en dos grupos (Figura 9), uno que recibiría tratamiento con melatonina (31/63 pacientes), en una dosis diaria de 10 mg, administrada a las 19:00 h durante 21 días, y el otro grupo, compuesto por 32 pacientes, que únicamente recibirían tratamiento con AINES y opioides para paliar la sintomatología y el dolor [15].

	MLT	Supportive care
Patients, n	31	32
M/F	25/6	28/4
Median age, years	61 (39–78)	59 (42–74)
Median RS (Karnofsky)	70 (40–100)	70 (40–100)
<i>Histotype</i>		
Epidermoid carcinoma	11	12
Adenocarcinoma	19	18
Large cell carcinoma	1	2
<i>Dominant metastasis sites</i>		
Soft tissues	0	3
Bone	9	10
Visceral lesions	22	19
Lung	11	10
Liver	9	6
Lung + liver	0	1
Brain	2	2

Figura 9. Características de los pacientes [15].

Resultados

Las conclusiones que sacó el equipo del Dr. Lissoni de este estudio fueron, de nuevo, que la melatonina consigue una mayor supervivencia a 1 año (Figura 10) y un mayor control de la progresión tumoral (Figura 11), en aquellos pacientes en los que una primera línea de tratamiento quimioterápico no había funcionado, respecto a los pacientes bajo tratamiento paliativo (Figura 12), aunque esta significación no fuese estadística ($p>0,05$). También se observó un mejor control en pacientes con metástasis no hepáticas (hueso, pulmón y tejidos blandos) que aquellos con invasión tumoral del hígado. De acuerdo con esto, consideraron que la afectación hepática podría considerarse un factor de mal pronóstico en el tratamiento con melatonina [15].

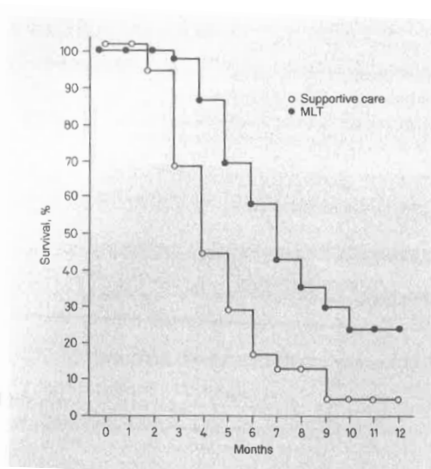


Figura 10. Porcentaje de supervivencia a 1 año en pacientes tratados con melatonina vs tratamiento paliativo [15]

	n	Clinical response		
		MR	SD	PD
Overall patients	31	1 (3)	10 (32)	20 (65)
<i>Histotype</i>				
Epidermoid carcinoma	11	0	2 (18)	9 (82)
Adenocarcinoma	10	1 (5)	8 (44)	10 (51)
Large cell carcinoma	0	0	0	1
<i>Sites of metastasis</i>				
No liver metastases	22	1 (5)	10 (45)	11 (50)
Liver metastases	9	0	0	9 (100)
<i>Duration of response, months</i>				
		Median	Range	
MR		12*	—	
SD		4	3–24*	
<i>Survival, months¹</i>				
Overall patients	31	6	2–24*	
Progressed patients	20	5	2–8	
Patients with MR or SD	11	13	4–24*	

Values in parentheses are percentages.

¹ From the progression under chemotherapy.

Values in parentheses are percentages.
¹ From the progression under chemotherapy.

Figura 11. Respuesta terapéutica en pacientes tratados con melatonina [15].

	n	Clinical response	
		SD	PD
Overall patients	32	3 (9)	29 (91)
<i>Histotype</i>			
Epidermoid carcinoma	12	2 (16)	10 (84)
Adenocarcinoma	18	0	18 (100)
Large cell carcinoma	2	1	1
<i>Sites of metastasis</i>			
No liver metastases	25	3 (12)	22 (88)
Liver metastases	7	0	7 (100)
<i>Duration of response, months</i>			
		Median	Range
SD	3	4	3–5
<i>Survival, months¹</i>			
Overall patients	32	3	2–14
Progressed patients	29	3	2–8
Patients with SD	3	13	8–14

Values in parentheses are percentages.
¹ From the progression under chemotherapy.

Figura 12. Respuesta terapéutica en pacientes con tratamiento paliativo [15].

En cuanto al tipo tumoral, la melatonina logró mejores resultados en pacientes afectos de adenocarcinoma en comparación con carcinomas epidermoides ($p < 0,01$) [15]. Asimismo, los pacientes en tratamiento con melatonina obtuvieron un mejor estado general que el presentado previamente al ensayo, en comparación con el tratamiento paliativo ($p < 0,01$) [15].

Simultáneamente, también en el año 1992, el **Dr. Lissoni** continuó su investigación en pacientes diagnosticados de **cáncer de pulmón no microcítico avanzado**, pero esta vez orientó su estudio hacia un **tratamiento de primera línea que combinase la melatonina con la interleukina-2 (IL-2)** [17].

En vista del mal pronóstico del cáncer de pulmón metastásico y dado que la quimioterapia tiene un efecto limitado en el tratamiento (además de los efectos secundarios que provoca en estos pacientes), a lo largo de los años se han planteado nuevas líneas de tratamiento, como pueden ser la inmunoterapia o la hormonoterapia. Grimm et al [18] constataron el papel llevado a cabo por la IL-2 sobre el crecimiento tumoral (capaz de provocar una respuesta inmune antitumoral efectiva), convirtiéndose en una posible estrategia inmunológica frente al cáncer. El efecto de la IL-2 sobre el cáncer pulmonar no microcítico fue analizado también por Rosenberg et al [19], Ardizzoni et al [20] y Krigel et al [21]. Por otro lado, Minuto et al [22] determinaron que, tanto la somatomedina-C como el factor de crecimiento insulínico tipo I (IGF-1), ejercen influencia en la evolución del cáncer de pulmón. De este modo, una buena estrategia hormonal para el tratamiento de estos tumores sería la inhibición de estos dos factores. Por ello, Lamberts [23] propuso la utilización de agonistas de la somatostatina y Smythe et al [24] el empleo de la melatonina como tratamiento alternativo en este tipo de tumores.

Adicionalmente, la melatonina ejerce una acción directa citostática sobre la progresión tumoral, provocando el control de ésta [11, 25]. Es capaz de combatir la inmunosupresión provocada por los tratamientos quimioterápicos [26] y aumentar así la acción llevada a cabo por la IL-2 [27] (que era menor cuando se empleaba de forma aislada [17]).

Por lo tanto, en base a los estudios previos sobre la acción de la melatonina en el control de la progresión tumoral en pacientes con cáncer de pulmón microcítico avanzado [11] y su participación como potenciador del sistema inmune del paciente e, indirectamente, de la acción de la IL-2 [27], el Dr. Lissoni decidió llevar a cabo este ensayo clínico para comprobar si la combinación de estos dos, IL-2 + melatonina, podría suponer un tratamiento alternativo para los pacientes con cáncer de pulmón en estadio avanzado [17].

El ensayo clínico incluía a 20 pacientes diagnosticados de cáncer de pulmón no microcítico con metástasis. Con respecto al tratamiento empleado, se dio una dosis diaria oral de melatonina (10 mg) a las 20:00 h, comenzando 7 días antes del inicio de la IL-2 (una inyección subcutánea de 9 UI dos veces al día, a las 8:00 y a las 20:00 horas). Primero, una dosis de inducción durante 2 días para pasar después a una fase de mantenimiento en la que se inyectaba una dosis de 3 UI dos veces al día, 5 días a la semana durante 4 semanas (un ciclo) [17].

Resultados

Como podemos observar (Figura 13), solo el 20% de los pacientes consiguieron una respuesta parcial al avance de la enfermedad con el tratamiento. El 50% obtuvo un control tumoral, con una duración media de 3,5 meses. Además, no se encontraron diferencias en lo que respecta a la respuesta terapéutica entre el adenocarcinoma y el carcinoma epidermoide. Finalmente, el 30% restante de pacientes no lograron el control, progresando el tumor con una media de supervivencia de 5 meses [17].

Cases	Sex	Age	Histotypes ^a	Sites of disease	Clinical response ^b	Response sites	Response duration (months)	Progression sites	Survival (months)
1	F	60	A	Lung, adrenal	PD	–	–	Adrenal	14 ⁺
2	M	63	A	Lung, liver	SD	–	3	Lung	5
3	M	55	E	Lung, nodes	SD	–	2	Lung	7
4	F	39	A	Lung	PR	Lung	12	Lung	13 ⁺
5	M	57	A	Lung, liver	SD	–	7	Liver	10
6	M	56	A	Lung, bone	PR	Lung	4	Lung	6
7	F	57	E	Lung, liver	SD	–	6	Liver, bone	11
8	F	61	E	Lung, bone, skin	PD	–	–	Lung, bone	3
9	M	49	LC	Lung, liver	PD	–	–	Lung, pleura	2
10	M	38	A	Lung, liver, bone	SD	–	5	Skin	9 ⁺
11	M	41	A	Lung, liver, pericardium	SD	–	2	Liver	5
12	M	40	LC	Lung, liver	PD	–	–	Lung	3
13	F	42	A	Lung, liver, bone	SD	–	3	Bone	5 ⁺
14	M	70	E	Liver	SD	–	5 ⁺	–	5 ⁺
15	M	56	E	Lung	SD	–	4 ⁺	–	4 ⁺
16	M	68	E	Lung	PR	Lung	3 ⁺	–	3 ⁺
17	F	55	A	Lung	PD	–	–	Lung	3
18	M	62	LC	Lung, nodes	PD	–	–	Brain	3 ⁺
19	M	70	E	Lung	PR	Lung	3 ⁺	–	3 ⁺
20	M	64	A	Lung	SD	–	3 ⁺	–	3 ⁺

^aA: adenocarcinoma; E: epidermoid cell carcinoma; LC: large cell carcinoma. ^bPR: partial response; SD: stable disease; PD: progressive disease.

Figura 13. Respuesta al tratamiento con melatonina + IL-2 en 20 pacientes con cáncer metastásico de pulmón no microcítico. [17]

Durante el ensayo clínico se realizaron varios análisis a los pacientes, donde se midieron niveles plasmáticos de linfocitos, células NK, CD25, neopterinina, TNF y receptor soluble de IL-2 [17]. Por ello, al final del tratamiento con melatonina + IL-2, se vio que el número de linfocitos T, células NK, CD25, y también eosinófilos, habían aumentado notablemente respecto al inicio del ensayo. Igualmente, se produjo un aumento de neopterinina y TNF, así como un aumento del número de receptores de IL-2 [17].

En definitiva, el resultado obtenido de la combinación de melatonina + IL-2 como tratamiento inmunoestimulador en el cáncer de pulmón no microcítico puede compararse con el alcanzado por la quimioterapia. Sin embargo, esta última produce daño en el sistema inmune del paciente, lo que influye negativamente en el pronóstico de la enfermedad. De esta manera, el tratamiento con melatonina + IL-2 previene ese daño, mejorando el pronóstico y potenciando la defensa del organismo contra el tumor [17]. El propio Dr. Lissoni [17] demuestra que la eficacia clínica dada por la unión de la melatonina + IL-2 puede ser debido a una supresión mediada por macrófagos (por parte de la melatonina) junto con una activación de la respuesta inmune, al observar el incremento de la neopterinina y el receptor soluble de IL-2 en pacientes con la doble terapia respecto al tratamiento aislado con IL-2 [29].

Por otra parte, antes hemos comentado que el Dr. Lissoni en uno de sus estudios [15] observó que pacientes con cáncer de pulmón y metástasis hepáticas mostraban un peor control de la enfermedad que aquellos con metástasis en otros lugares del cuerpo, y que el hecho de padecer metástasis en el hígado se consideraba un factor de mal pronóstico.

En cambio, este estudio [17] sugiere que la asociación de melatonina e IL-2 puede ser beneficiosa incluso en este tipo de pacientes, ya que al analizar los niveles plasmáticos de TNF durante el tratamiento, se vio que la melatonina no influía para nada en estos.

En resumen, con este estudio [17] el doctor Lissoni intentó demostrar que el tratamiento inmunoestimulador con melatonina en combinación con IL-2 es efectivo y bien tolerado por los pacientes con cáncer de pulmón no microcítico avanzado, siendo considerado así una nueva posible estrategia con la que hacer frente a este tipo de tumores.

Posteriormente, en 1994, una vez más el **Dr. Lissoni** [30] estudió en un nuevo ensayo clínico el **efecto antitumoral de la melatonina** sobre pacientes con **metástasis cerebrales** en los que habían fallado tratamientos anteriores.

Para llevar a cabo el estudio se incluyeron a 50 pacientes diagnosticados de metástasis cerebrales. Se dividió a la muestra en 2 grupos, uno sería tratado con cuidados paliativos y el otro con tratamiento paliativo + melatonina. La dosis de melatonina empleada fueron 20 mg a las 20:00 h durante todos los días hasta verificar progresión tumoral (se realizaba un control por TAC a todos los pacientes cada 2 meses) [30].

Resultados

Se observó que los pacientes tratados con melatonina mostraban un periodo libre de progresión mayor que aquellos tratados únicamente con tratamiento sintomático ($p < 0,05$). También se vio que la supervivencia a 1 año era bastante mayor en aquellos pacientes cuyo tratamiento incluía la melatonina (9/24 vs 3/26; $p < 0,05$), especialmente en los que presentaban metástasis de cáncer de pulmón. Asimismo, cuando se trataba de una única metástasis cerebral, los pacientes tratados con melatonina presentaban mayor supervivencia que aquellos tratados con paliativos ($p < 0,05$). Sin embargo, no había diferencias cuando se trataba de metástasis múltiples [30]. En cuanto a la calidad de vida, ésta mejoró respecto a la que presentaban previamente, en el grupo tratado con melatonina ($p < 0,01$) [30]. Por tanto, se demostró con significación estadística que la melatonina sí mejoraba tanto la supervivencia como la calidad de vida de los pacientes con metástasis cerebrales, cuando todo lo demás había fallado, respecto al tratamiento paliativo [30].

Simultáneamente, también el Dr. Lissoni [31], llevó a cabo otro estudio sobre el posible efecto de la **IL-2 + melatonina**, pero ahora **en tumores que no fuesen renales ni melanomas**.

La acción inmunológica anti-tumoral de la IL-2 se efectúa principalmente sobre el cáncer renal y el melanoma, siendo su participación muy baja en el resto de tipos histológicos [31]. Esto es debido, como comenté anteriormente, a un efecto supresor llevado a cabo por macrófagos [29]. Por tanto, en un intento de aumentar la eficacia de la IL-2 en el resto de tumores, se investigó la acción concomitante de la IL-2 con la melatonina, ya que se comprobó que la respuesta inmune, y secundariamente, el efecto inmunomodulador, depende tanto de interacciones con citokinas como neurohormonas (especialmente la melatonina) [26]. El Dr. Lissoni, en estudios previos suyos [32, 33], analizó y determinó

que la terapia combinada de melatonina + IL-2 aumentaba el efecto inmunológico de ésta última y, además, el efecto antitumoral en esos histotipos donde ejercía menos efecto. Es decir, la melatonina actúa inhibiendo la acción supresora de los macrófagos, aumentando el poder y la acción de la IL-2 [33].

Así, se reclutaron 80 pacientes diagnosticados de tumor sólido (no renal ni melanoma) sin respuesta a tratamientos anteriores, los cuales se dividieron en dos grupos. Uno de ellos recibiría una dosis subcutánea de IL-2 (3 UI/día) a las 20:00 h durante 6 días a la semana/4 semanas consecutivas. El otro grupo recibiría esta misma dosis de IL-2 junto a una dosis oral de 40 mg diarias de melatonina, administrados a las 20:00 h, 7 días antes del comienzo de la IL-2 [31].

Resultados

Se observó (Figura 14) una respuesta completa en al menos 3 pacientes del grupo tratado con melatonina, no obteniéndose ésta en el otro grupo. Un 19% (8/41) de pacientes tratados con melatonina lograron una respuesta parcial, con una duración media de 9 meses. 12 de los 41 (30%) pacientes pertenecientes a este mismo grupo no alcanzaron una respuesta, pero sí el control de la enfermedad. Por el contrario, dentro del grupo tratado únicamente con IL-2, solamente 1 paciente (3%) consiguió una respuesta parcial (duración media 5 meses), el 28% de los pacientes obtuvo un control sobre la enfermedad y en el resto de pacientes (27/39; 69%) progresó el tumor [31].

Tumour histotype	n	Clinical response ^a											
		IL-2						IL-2 + MLT					
		CR	PR	CR + PR	SD	PD	n	CR	PR	CR + PR	SD	PD	
Overall tumours	39	0	1	1 (3%)	11	27	41	3	8	11 (26%)*	12	18	
Non-small cell lung cancer	9	0	0	0	3	6	12	0	3	3	4	5	
Colorectal adenocarcinoma	11	0	0	0	1	10	8	0	1	1	2	5	
Hepatocarcinoma	5	0	1	1	2	2	7	1	2	3	2	2	
Gastric adenocarcinoma	5	0	0	0	2	3	6	1	1	2	2	2	
Pancreas adenocarcinoma	5	0	0	0	2	3	5	1	0	1	1	3	
Breast cancer	4	0	0	0	1	3	3	0	1	1	1	1	

^aCR, complete response; PR, partial response; SD, stable disease; PD, progressive disease. * $P < 0.001$ vs IL-2 alone.

Figura 14. Resultados clínicos en pacientes con tumor sólido tratados con IL-2 sola o IL-2 + melatonina [31].

En definitiva, la tasa de respuesta tumoral fue considerablemente mayor en el grupo en el que se empleó la combinación de IL-2 + melatonina respecto al grupo tratado únicamente con IL-2 ($p < 0,001$). Del mismo modo, el periodo libre de progresión fue mayor en el grupo que incluía melatonina en su tratamiento ($p < 0,05$) [31]. Además, se analizó el número de linfocitos, eosinófilos y neopterina previamente y después de recibir el tratamiento. Se observó, tanto un aumento de linfocitos y eosinófilos, como una disminución de los niveles de neopterina en el grupo tratado con IL-2+ melatonina, con resultados estadísticamente significativos [31].

Así pues, con este estudio el Dr. Lissoni demostró que la acción combinada de la melatonina con la IL-2 potencia la acción inmunológica en el resto de tumores (distintos al cáncer renal y el melanoma) donde, actuando por sí sola, no conseguía ningún tipo de respuesta [31].

A consecuencia del mal pronóstico de este tumor y su escasa respuesta al tratamiento, en 1996, el Dr. P. Lissoni se propuso investigar la **posible sinergia entre la melatonina y la radioterapia en pacientes diagnosticados de glioblastoma** [34].

Tanto la actividad como la proliferación de las células gliales dependen del control de un sistema neuroendocrino, formado principalmente por péptidos opioides, encargados de estimular su crecimiento. Por el contrario, se ha visto que las hormonas pineales, especialmente la melatonina, ejercen una acción inhibitoria sobre la actividad glial [35, 36]. En vista de que la naltrexona (antagonista opioide), administrada junto con radioterapia (RT), es capaz de prolongar la supervivencia en pacientes diagnosticados de glioblastoma respecto a un tratamiento únicamente con RT [37], el Dr. Lissoni puso en marcha este ensayo clínico para intentar hallar el efecto concomitante de la melatonina + RT como tratamiento alternativo al glioblastoma y el posible papel de la melatonina en la supervivencia de estos pacientes [34].

Para el estudio se seleccionaron a 30 pacientes diagnosticados de glioblastoma y a los cuales se dividieron en dos grupos (Figura 15), uno que recibiría RT como único tratamiento y el otro, RT + melatonina. Se administró una dosis de RT de 46 Gy (holocraneal) + 14 Gy (directamente al tumor) en dosis de 2 Gy/día. En cuanto a la melatonina, los pacientes recibieron una dosis de 20 mg/día administrada por la tarde-noche [34].

Resultados

Se observó que, tanto la tasa de regresión como el periodo libre de progresión, fueron mayores en pacientes tratados con la doble terapia que con RT sola, pero sin lograr la significación estadística. Por el contrario (Figura 16), la supervivencia a 1 año fue superior en pacientes tratados con melatonina ($p<0,01$), así como la curva de supervivencia, que fue más amplia también en este grupo ($p<0,05$) [34].

Characteristics	RT	RT + MLT
Total number	16	14
Sex (m/f)	9/7	9/5
Median age, years	48 (32–76)	51 (33–74)
Under age 50, %	6/16	5/14
Median performance status (Karnofsky), %	80 (70–100)	80 (60–100)
Neurologic status		
No important neurologic sign	5	4
Neurologic signs	11	10
Median duration of symptomatology before therapy, days	36 (4–48)	41 (5–53)
Type of surgery		
No surgery	3	3
Palliative surgery	9	8
Macroscopically radical surgery	4	3

Figures in parentheses represent range.

Figura 15. Características de los pacientes con glioblastoma tratados con RT o RT + melatonina [34].

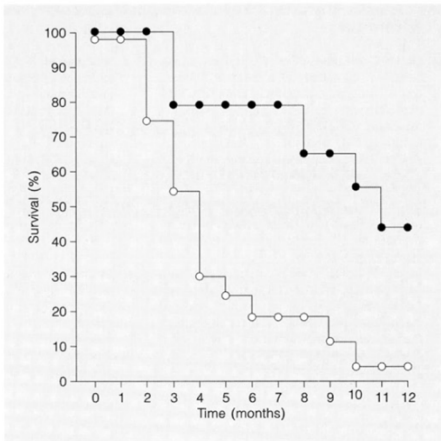


Figura 16. Curvas de supervivencia en pacientes tratados con RT (círculo blanco) o RT+ melatonina (círculo negro) [34].

De esta manera, se estableció que la administración conjunta de melatonina con RT en pacientes con glioblastoma, aumenta la eficacia de la RT, prolongando su supervivencia. También se observó una disminución de los efectos secundarios producidos por la RT en estos pacientes [34].

En base a su estudio anterior, llevado a cabo en pacientes con cáncer de pulmón no microcítico [15], en los que se observó que la melatonina aumentaba la supervivencia en estos pacientes respecto al tratamiento paliativo [15]; la probada interacción de la melatonina sobre el efecto supresor de la quimioterapia en la defensa anti-tumoral llevada a cabo por el sistema inmune del paciente [38][39]; la reducción de los efectos adversos producidos por fármacos citostáticos [40]; el reciente descubrimiento, en esa época, de la acción anti-oxidante de la melatonina [41] y su papel inhibidor de la toxicidad quimioterápica producida por estos radicales libres y, por último, la acción directa citostática de la melatonina (al inhibir la secreción de factores de crecimiento tumorales) [42], llevó al **Dr. Lissoni** a realizar un nuevo estudio en pacientes diagnosticados de **cáncer pulmonar no microcítico** y analizar el impacto de una **terapia** que **combinase la melatonina junto a quimioterapia respecto a un tratamiento únicamente basado en quimioterapia como primera línea de tratamiento** [43].

Se seleccionaron a 70 pacientes con cáncer de pulmón no microcítico los cuales se dividieron en 2 grupos, uno de ellos recibiría quimioterapia únicamente (20 mg/día i.v. de cisplatino y 100 mg/día i.v de etopósido, durante 3 días consecutivos en intervalos de 21 días entre ciclo y ciclo) y el otro una combinación de quimioterapia y melatonina (una dosis de 20 mg de melatonina por vía oral a la tarde durante todos los días) [43].

Resultados

Ningún paciente tratado únicamente con quimioterapia (Figura 17) consiguió una respuesta completa de la enfermedad. Sin embargo, solo uno de los pacientes tratados con la doble terapia lo logró. En cuanto a la respuesta parcial, se obtuvo en 6/36 pacientes en el grupo de quimioterapia y en 10/34 pacientes en el grupo tratado con melatonina y quimioterapia.

	Chemotherapy	Chemotherapy + Melatonin
Clinical response [†]		
– CR	0	1
– PR	6	10
– CR + PR	6 (17%)	11 (32%)
– SD	16	15
– PD	14	7
Median duration of response (months)	6	9
(range)	(2–8)	(3–14)
Response in relation to histotype		
– Epidermoid cell carcinoma	3/13	5/12
– Adenocarcinoma	3/19	5/18
– Large-cell carcinoma	0/3	0/2
– Bronchioloalveolar carcinoma	0/1	1/2
Percent of 1-year survival	7/36 (19%)	15/34 (44%)*

[†]CR: complete response; PR: partial response; SD: stable disease; PD: progressive disease.

*P < 0.05 vs. chemotherapy only.

Figura 17. Resultados del estudio en pacientes tratados con quimioterapia o quimioterapia más melatonina [43].

De esta forma, la tasa de regresión tumoral alcanzada fue mayor en el grupo de la doble terapia que en el grupo tratado solo con quimioterapia, aunque no fue estadísticamente significativo, con una duración media de respuesta de 9 meses y 6 meses, respectivamente.

Además, la tasa de supervivencia a 1 año fue mayor también en el grupo que incluía melatonina en su tratamiento ($p < 0,05$). Por último, los efectos adversos producidos por la quimioterapia fueron menores en el grupo tratado con melatonina [43].

Así, se llegó a la conclusión de que el tratamiento concomitante de quimioterapia y melatonina puede favorecer la regresión tumoral en este tipo de pacientes y, de este modo, mejorar su supervivencia. Por otro lado, al inhibir la melatonina la toxicidad producida por la quimioterapia, y también, debido a sus efectos anti-tumorales directos, actúa tanto en el pronóstico como en la calidad de vida del paciente [43].

En 1998, **Neri et al** [44] quisieron seguir investigando el **papel de la melatonina y su función antitumoral sobre el sistema inmune de pacientes con cáncer**. De esta forma analizaron el control, llevado a cabo por ésta, sobre la producción de citocinas en pacientes con metástasis de tumor sólido sin respuesta a tratamientos anteriores.

Para ello reclutaron a 31 pacientes con el diagnóstico de enfermedad metastásica los cuales recibieron una dosis de 10 mg/día de melatonina administrada por la tarde (20:00h), durante 3 meses. Se tomaron análisis de los pacientes y se midieron los niveles de TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-2 e IL-6 un mes después del comienzo con la terapia. También se determinó su estado general y su calidad de vida dos meses después del comienzo del ensayo [44].

Resultados

Se observó un aumento de los niveles de 4 citocinas (TNF- α , IL-1, IL-2 e IFN- γ) mientras que los niveles de IL-6 disminuyeron alrededor de un 70% en la mitad de los pacientes (Figura 18) [44]. En cuanto a la progresión de la enfermedad, 61% de los pacientes experimentaron crecimiento tumoral y el 39% consiguió estabilización [44]. Además, se observó una mejora en el estado general (Figura 19) en 12/31 pacientes, valorada por unos cuestionarios que se entregaron a los pacientes tanto antes del tratamiento como después [44].

Cytokines	Basal value (mean \pm SD)	Post-treatment value (mean \pm SD)	P*
TNF-alpha (pg/ml)	12.67 \pm 4.11	15.45 \pm 6.32	0.009
IL-1 (pg/ml)	3.76 \pm 2.11	5.20 \pm 3.94	0.001
IL-2 (IU/ml)	0.46 \pm 0.27	0.65 \pm 0.30	0.001
IL-6 (pg/ml)	21.11 \pm 3.92	4.69 \pm 2.88	0.001
IFN-gamma (IU/ml)	0.58 \pm 0.18	0.76 \pm 0.26	0.001

* Student's paired t-test

Figura 18. Niveles circulantes de citocinas [44].

Score	MLT treatment	
	Before N° Pts (%)	After N° Pts (%)
40 - 60	15 (48%)	10 (32%)
60 - 80	16 (52%)	21 (68%)

Figura 19. Escala Karnofsky [44]

En conclusión, con este estudio el Dr. Neri comprobó la interacción de la melatonina en los niveles de citokinas en pacientes con cáncer de tumor avanzado, aumentándolos, y estimulando de esta manera el sistema inmune del paciente, ayudando así al control de la enfermedad. La disminución de los niveles de IL-6 podría asociarse a la mejora del estado general de los pacientes, valorado mediante escalas y cuestionarios centrados en síntomas como la astenia, el dolor o el apetito [44].

En base a lo comentado anteriormente, sobre el **efecto de la melatonina en combinación con quimioterapia en pacientes con cáncer avanzado**, y publicaciones previas acerca de la evidente acción antioxidante de ésta, su papel inmunomodulador y sus propiedades anti-tumorales [40, 43, 46, 47, 48, 49] y, por ende, el **efecto que produce tanto en la supervivencia, como en el control de la enfermedad y en los efectos secundarios de la quimioterapia en estos pacientes**, el Dr. Lissoni, en 1999, llevó a cabo un nuevo estudio en el que trató de evaluar todos estos parámetros en pacientes con cáncer metastásico, mediante la administración concomitante de quimioterapia y melatonina [45].

El estudio incluyó a 250 pacientes con el diagnóstico de metástasis a distancia, los cuales fueron divididos en dos grupos, uno que recibiría como único tratamiento quimioterapia y, el otro, que añadiría al tratamiento la melatonina. La dosis de melatonina administrada fue de 20 mg/ día por la tarde, durante todos los días, comenzando 7 días antes del ciclo de quimioterapia. En cuanto a los fármacos quimioterápicos, tanto el tipo de fármaco como la pauta varió en función del tipo histológico del tumor [45].

Resultados

En el grupo de pacientes tratados únicamente con quimioterapia (Figura 20) no se observó ninguna respuesta completa. Sin embargo, en el otro grupo, que incluía melatonina, 6/124 pacientes lo consiguieron ($p<0,02$). Respecto a alcanzar una respuesta parcial, 36/124 pacientes pertenecientes al grupo de la terapia concomitante con melatonina la obtuvieron, en contra del otro grupo, que solo se logró en 19/126 pacientes con una $p<0,01$. De esta forma, la tasa de regresión tumoral fue bastante mayor en pacientes tratados también con melatonina que aquellos que recibieron únicamente quimioterapia (42/124 vs. 19/126 con una $p<0,001$). Adicionalmente, la supervivencia a 1 año (Figuras 21 y 22) fue mayor en el grupo tratado con melatonina respecto al otro ($p<0,001$) [45].

Chemotherapeutic regimen	CT						Clinical response					
	n	CR	PR	CR+PR (%)	SD	PD	n	CR	PR	CR+PR (%)	SD	PD
Cisplatin + VP-16	40	0	7	7 (18)	18	15	38	2	12	14 (37)*	16	8
Gemcitabine	12	0	1	1 (8)	7	4	14	0	4	4 (29)	7	3
Doxorubicin	19	0	6	6 (32)	6	7	21	1	9	10 (48)†	8	3
Mitoxantrone	13	0	1	1 (8)	5	7	11	0	1	1 (9)	6	4
Paclitaxel	6	0	0	0	3	3	7	1	1	2 (29)	4	1
5-Fluorouracil + folinic acid	22	0	2	2 (9)	8	12	20	1	5	6 (30)†	9	5
5-Fluorouracil + cisplatin	14	0	2	2 (14)	6	6	13	1	4	5 (38)	6	2
Overall treatments	126	0	19 (15%)	19 (15)	53 (42%)	54 (43%)	124	6 (5%)	36 (29%)	42 (34)*	56 (45%)	26 (21%)

* $P<0.001$ versus CT; † $P<0.05$ versus CT. CR, complete response; PR, partial response; SD, stable disease; PD, progressive disease.

Figura 20. Respuesta de los 250 pacientes tratados con quimioterapia (CT) o con CT más melatonina (MLT) [45].

Chemotherapeutic regimen	Per cent of 1-year survival (%)	
	CT (%)	CT + MLT (%)
Cisplatin + VP 16	8/40 (20)	17/38 (45)*
Gemcitabine	2/12 (17)	6/14 (43)‡
Doxorubicin	7/19 (37)	13/21 (62)‡
Mitoxantrone	2/13 (15)	2/11 (18)
Paclitaxel	1/6 (17)	5/7 (71)‡
5-Fluorouracil + folinic acid	7/22 (32)	12/20 (60)‡
5-Fluorouracil + cisplatin	2/14 (14)	8/13 (62)†
Overall treatments	29/126 (23)	63/124 (51)*

* $P < 0.001$ versus CT; † $P < 0.02$ versus CT; ‡ $P < 0.05$ versus CT.

Figura 21. Porcentaje de supervivencia a 1 año de pacientes tratados con quimioterapia (CT) o CT más melatonina [45].

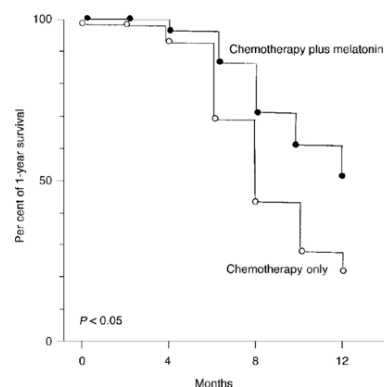


Figura 22. Supervivencia a 1 año de pacientes con cáncer metastásico tratados con quimioterapia únicamente o con quimioterapia más melatonina [45].

Por último, no se observó toxicidad producida por la melatonina. Además, se vio que en el grupo que incluía la melatonina como tratamiento, existía una disminución de la toxicidad producida por los fármacos quimioterápicos recogidos en la figura 23 [45].

Toxicity	CT (n = 126) (%)	CT + MLT (n = 124) (%)
Myelosuppression	54 (43)	25 (20)*
Leucopenia	22 (17)	13 (10)
Anaemia	11 (9)	8 (6)
Thrombocytopenia	31 (25)	4 (3)†
Neurotoxicity	17 (13)	3 (2)†
Nephrotoxicity	4 (3)	0
Cardiotoxicity	12 (10)	2 (2)†
Stomatitis	38 (30)	12 (10)†
Alopecia	74 (59)	63 (51)
Nausea/vomiting	72 (57)	61 (49)
Diarrhoea	24 (19)	16 (13)
Asthenia	79 (63)	33 (27)*

* $P < 0.001$ versus CT; † $P < 0.05$ versus CT.

Figura 23. Principales efectos secundarios a la quimioterapia (CT) o CT más melatonina [45].

En definitiva, con este estudio se volvió a constatar el sólido efecto de la melatonina en pacientes con cáncer avanzado al asociarlo a quimioterapia, mejorando notablemente tanto su supervivencia, como el control de la enfermedad y una clara mejoría del estado general de los pacientes, al disminuir las toxicidades producidas por la quimioterapia. Sin embargo, los estudios realizados con la doble terapia se basan en pacientes con cáncer avanzado, metastásico, los cuales tienen de base una disminución de los niveles endógenos de melatonina [50 - 52]. Por tanto, el tratamiento con melatonina supondría en ellos un reemplazo de la secreción pineal de esta hormona. Es por ello por lo que el Dr. Lissoni propone más estudios en pacientes con cáncer no tan avanzado, con mejor estado general, para de esta forma aclarar si la acción de la melatonina se debe a una falta del ritmo circadiano normal o es independiente de la secreción pineal de melatonina [45].

Si bien, en estudios anteriores, tanto el Dr. Lissoni como otros autores, trataron de investigar los mecanismos antitumorales de la melatonina en base a su acción inmunomoduladora, antiproliferativa y antioxidante, ahora, el **Dr. Lissoni et al** [53] en el año 2001, llevan a cabo un estudio para intentar identificar la probable **relación entre la**

melatonina y el factor de crecimiento endotelial (VEGF) y el papel de ésta en la angiogénesis tumoral.

VEGF representa el factor angiogénico más potente conocido, actuando directamente sobre el endotelio de los vasos o mediante el aumento de la permeabilidad vascular [54]. En pacientes con cáncer avanzado, se han observado niveles altos de VEGF, relacionado además con un peor pronóstico y con una menor supervivencia [57]. Asimismo, VEGF puede provocar inmunosupresión al inhibir la formación de células dendríticas [58], las cuales desempeñan un papel fundamental en la inmunidad antitumoral [59]. En definitiva, VEGF puede causar proliferación tumoral mediante inmunosupresión o, directamente, por angiogénesis, la cual representa uno de los principales mecanismos de crecimiento tumoral [55]. Desde que se descubrió que en la angiogénesis participan citokinas inflamatorias, se ha especulado sobre la implicación del sistema neuroendocrino mediante su efecto en la secreción de citokinas [56]. Por ello, la glándula pineal, la cual representa uno de los principales órganos neuroendocrinos, y mediante la secreción principal de melatonina, hormona anti-tumoral bien documentada por múltiples acciones, entre las que se encuentran, como he comentado anteriormente, su actividad inmunomoduladora, citostática y anti-oxidante [56], podría actuar también, de esta manera, en la angiogénesis tumoral [53].

En consecuencia, el Dr. Lissoni et al [53] llevaron a cabo este estudio para intentar analizar los efectos de la melatonina en la secreción de VEGF, y su variación en los niveles sanguíneos, en pacientes con cáncer avanzado.

Con este fin, se estudiaron a 20 pacientes diagnosticados de cáncer metastásico. La dosis de melatonina recibida fue de 20 mg/día durante todos los días administrada por la tarde (alrededor de las 20:00 h) mínimo durante 2 meses. Se le realizaron análisis radiológicos y sanguíneos para analizar los niveles de VEGF antes de comenzar la terapia con melatonina, y después cada 15 días [53].

Resultados

En relación con la respuesta tumoral, se consiguió una respuesta menor (reducción menor del 50% pero mayor del 25% en las lesiones al menos en 1 mes) en 2 pacientes y una estabilización de la enfermedad en otros 6 pacientes. El resto progresó [53].

En cuanto a los niveles de VEGF (Figura 24), el 45% (9/22) de los pacientes presentaban antes del tratamiento con melatonina niveles aumentados en sangre. Durante la terapia se observó una disminución de los niveles de VEGF, pero sin significación estadística respecto a los niveles pre-tratamiento. Sin embargo, llamó la atención que en los pacientes en los que sí progresó la enfermedad, no se produjo tal disminución de los niveles en respuesta a la melatonina, mientras que en los pacientes con control de la enfermedad (respuesta menor y estabilización) la concentración de VEGF en sangre había disminuido durante el tratamiento. Además, no había diferencias en los niveles de VEGF pre-tratamiento en los pacientes en los que progresó la enfermedad respecto a los que no [53].

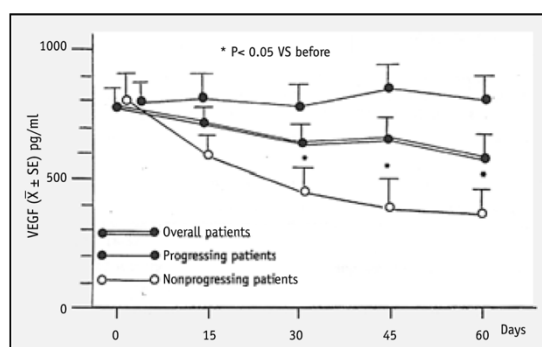


Figura 24. Cambios en niveles sanguíneos de VEGF durante el tratamiento con melatonina en pacientes con cáncer metastásico [53].

Por ende, este estudio muestra la probable actividad antiangiogénica de la melatonina, al disminuir los niveles plasmáticos de VEGF tras su tratamiento, contribuyendo así, junto con el resto de las acciones descritas anteriormente, a la reducción de la proliferación tumoral. Igualmente, se ha visto que aquellos pacientes que consiguen un control de la enfermedad tumoral presentan niveles de VEGF más bajos en sangre [53]. Por último, la disminución de los niveles de VEGF por la melatonina pueden contribuir a explicar el aumento de la actividad inmune llevado a cabo por la hormona, dado que, como hemos visto previamente, VEGF es capaz de suprimir el sistema inmune al inhibir el desarrollo de las células dendríticas [53, 58, 59].

En el año 2002, **Jian-Jun Yan et al** [60] decidieron observar el efecto que producía la **adición de la melatonina al tratamiento con quimioembolización arterial transcatéter (TACE) en pacientes con hepatocarcinoma avanzado inoperable en comparación con TACE únicamente**. Este estudio surge ante la necesidad de proporcionar a estos pacientes una intensificación del efecto de la TACE, para así pasar del estado de inoperable a resecable mediante cirugía en dos etapas (ya que es el único tratamiento curativo en este tipo de tumores) [60].

Con este fin, 100 pacientes diagnosticados de hepatocarcinoma inoperable fueron incluidos en el estudio, los cuales fueron divididos en dos ramas de tratamiento, uno de ellos recibiría exclusivamente TACE y el otro TACE + melatonina. La administración de TACE se llevaba a cabo cada 6 semanas, 3 días por semana. La dosis de melatonina empleada fue de 20 mg/día oral a las 20:00 h, 7 días antes del tratamiento con TACE hasta 21 días después de él [60]. Se midieron a todos los pacientes niveles de MDA (un peróxido lipídico que puede medir el daño oxidativo del organismo) y la función hepática; se calculó la tasa de supervivencia a los 0,5, 1 y 2 años y los niveles plasmáticos de IL-2 y SIL-2R [60].

Resultados

El estudio se llevó a cabo durante 2 años en los que no se vio ninguna respuesta a la enfermedad. Aun así, la tasa de eficacia fue mayor en el grupo con la doble terapia que con TACE únicamente (28% vs 16%). Además, los resultados con TACE + melatonina fueron mejores ($p < 0,05$) ya que 7/50 (14%) pacientes pertenecientes a este grupo se beneficiaron de una resección en dos tiempos posterior al estudio y solo el 4% (2/50) de

pacientes del grupo tratado únicamente con TACE lo lograron ($p < 0,01$). En cuanto a la tasa de supervivencia al 0,5 año, 1 año y 2 años fueron de 82%, 54% y 26% en el grupo de TACE y de 100%, 68% y 40% en el grupo de TACE + melatonina, respectivamente (con una $p < 0,05$) [60].

En cuanto a los niveles de MDA, en el grupo tratado con TACE éstos habían aumentado durante el tratamiento ($p < 0,05$). En cambio, en el grupo tratado con TACE + melatonina no hubo variación respecto a los niveles previos al estudio ($p < 0,05$). Por tanto, se vio que la melatonina protegía la función hepática del daño producido por la TACE (Figura 25)[60]. Respecto a la IL-2 (Figura 26), los pacientes tratados con TACE + melatonina lograron niveles más altos después del tratamiento ($p < 0,01$) y la expresión de SIL-2R disminuyó de manera significativa ($p < 0,01$), no objetivándose cambio alguno en el grupo tratado únicamente con TACE [60].

Group	Total bilirubin ($\mu\text{mol/L}$)	ALT (U/L)	AST (U/L)
TACE	45 \pm 5	215 \pm 39	176 \pm 26
TACE + MLT	32 \pm 4	102 \pm 25	93 \pm 20
<i>t</i>	5. 16	3. 42	6. 65
<i>P</i> <	0. 01	0. 01	0. 01

Figura 25. Función hepática después del tratamiento con TACE o TACE + melatonina [60].

Group	IL-2 (ng/L)			SIL-2R (U/ml)		
	Before treatment	After treatment	<i>P</i>	Before treatment	After treatment	<i>P</i>
TACE	20 \pm 4	22 \pm 5	>0. 05	834 \pm 253	782 \pm 301	>0. 05
TACE + MLT	22 \pm 4	33 \pm 5	<0. 01	954 \pm 208	445 \pm 279	<0. 01

Figura 26. Niveles plasmáticos de IL-2 y expresión del SIL-2R en pacientes tratados con TACE o TACE + melatonina [60].

Con este estudio se vio que, aunque la TACE es uno de los tratamientos efectivos para pacientes con hepatocarcinoma e indicación no quirúrgica, su efecto no es del todo satisfactorio, incluso resulta dañino para la función hepática cuando se administra solo [60]. Del mismo modo, ya que existe un receptor de melatonina en el hígado, puede ser beneficioso el tratamiento concomitante en estos pacientes, ya que el tratamiento con melatonina ayuda mediante sus acciones antitumorales, principalmente la antioxidante, a controlar el daño celular impartido por la TACE y a mejorar la función hepática, la calidad de vida y la supervivencia en pacientes con hepatocarcinoma avanzado [60].

En base a todo lo comentado previamente, podemos afirmar que la melatonina es útil como tratamiento, tanto único como concomitante a otros, en pacientes diagnosticados de cáncer avanzado. La principal razón de la asociación entre melatonina y quimioterapia es el efecto que provoca la melatonina sobre el sistema inmune del paciente, disminuyendo el daño linfocitario provocado por la quimioterapia [61], lo que explicaría el incremento en la supervivencia de estos pacientes [62]. Alternativamente a la acción inmunoestimuladora de la melatonina, se observó que algunos agentes antioxidantes podrían potenciar la acción citotóxica de los fármacos quimioterápicos [63]. De esta forma, al considerarse la melatonina el agente antioxidante más potente conocido hasta ahora [64], se podría pensar que la melatonina contribuye tanto al incremento en la tasa

de supervivencia en pacientes tratados con quimioterapia como al aumento de la regresión tumoral cuando se combinan melatonina con fármacos quimioterápicos [65]. Además, esto se ha visto reflejado en pacientes con tumores en los que la eficacia del tratamiento con quimioterapia no es del todo alta, como pacientes diagnosticados de cáncer de pulmón no microcítico [62].

Por todo ello, El Dr. Lissoni y su equipo decidieron **estudiar** nuevamente **en pacientes diagnosticados de cáncer de pulmón no microcítico a los que se administró una terapia combinada de melatonina y quimioterapia frente a tratamiento quimioterápico exclusivo** [65].

Se incluyeron a 100 pacientes diagnosticados de cáncer de pulmón no microcítico los cuales se dividieron en dos grupos, uno con tratamiento único de quimioterapia y el otro con una combinación de quimioterapia y melatonina. Los ciclos de quimioterapia estaban formados por cisplatino (20 mg/día iv) y etopósido (100 mg/día iv) durante 3 días consecutivos, en un intervalo de 21 días. La dosis de melatonina recibida fue de 20 mg de melatonina oral/día, administrada sobre las 20:00 h, todos los días, 7 días antes del ciclo de quimioterapia.

Resultados

Respecto a la respuesta a la progresión tumoral, en el grupo tratado únicamente con quimioterapia no se obtuvo ninguna respuesta completa. Sin embargo, en el grupo que sumaba la melatonina en su terapia, la respuesta completa se obtuvo en 2 de 49 pacientes (4%). Una respuesta parcial se logró en 9/51 (18%) pacientes tratado solo quimioterapia y en 15/49 (31%) pacientes tratados con quimioterapia + melatonina (Figura 27) [65].

Patients	n	Clinical response				
		CR	PR	CR + PR (%)	SD	PD
Chemotherapy	51	0	9	9 (18%)	22	20
Chemotherapy and melatonin	49	2	15	17 (35%)*	26	6**

CR, complete response; PR, partial response; SD, stable disease; PD, progressive disease.

* $P < 0.05$ versus chemotherapy alone; ** $P < 0.01$ versus chemotherapy alone.

Figura 27. Respuesta clínica observada en los 100 pacientes diagnosticados de cáncer de pulmón no microcítico tratados con quimioterapia o quimioterapia más melatonina [65].

Además, la tasa de regresión tumoral obtenida fue mayor en los pacientes que combinaban la doble terapia, con un nivel de significación $p < 0,05$. Se consiguió controlar la enfermedad en 22 pacientes tratados con quimioterapia frente a 26 pacientes en tratamiento concomitante con melatonina. En el resto de los pacientes progresó la enfermedad (20 de 51 pacientes en el grupo tratado solamente con quimioterapia y 6 de 49 pacientes en el grupo con que incluía la melatonina, con una $p < 0,01$) [65].

Por otra parte, se evidenció que el grupo que recibió melatonina en su tratamiento presentó una tolerancia mejor a los efectos de la quimioterapia [65].

De igual modo a los resultados en la regresión de la enfermedad, se vio que la tasa de supervivencia era mayor en los pacientes tratados con quimioterapia y melatonina frente a los pacientes que solo recibieron quimioterapia ($p < 0,001$) [65].

Así pues, debido a que el cáncer de pulmón constituye una de las principales causas de muerte en adultos y el tratamiento con quimioterapia no es del todo efectivo, es necesario una estrategia que combine la quimioterapia y otro agente que contrarreste el daño inducido al sistema inmune de estos pacientes. Es por ello que la melatonina puede ocupar perfectamente este puesto, al demostrar, en diversos estudios (incluido éste) que la administración concomitante de melatonina y quimioterapia aumenta la supervivencia de los pacientes con cáncer de pulmón no microcítico, además de la calidad de vida [65].

Se ha analizado en otros estudios [61, 105] que la melatonina en asociación con quimioterápicos puede aumentar la eficacia de estos últimos, tanto en la tasa de supervivencia de los pacientes con cáncer como en la disminución de la progresión tumoral (entre ellos: cisplatino, antraciclinas y 5-fluorouracilo). Sin embargo, uno de los tratamientos más eficaces para el cáncer colorrectal avanzado [106], el irinotecan (CPT-11), no ha sido nunca estudiado en combinación con melatonina. Por ello, el siguiente estudio trata sobre la **combinación de melatonina e irinotecan y el efecto que produciría en pacientes diagnosticados de cáncer colorrectal avanzado, en los que la enfermedad ya ha progresado con un primer tratamiento con 5-fluorouracilo** [70].

El estudio seleccionó a 30 pacientes con cáncer de colon, los cuales se dividieron en dos grupos, uno de ellos recibiría solamente CPT-11 y el otro una combinación de CPT-11 con melatonina. En cuanto a la dosis, se empleó 125 mg/m^2 de CPT-11 intravenoso y una dosis oral de 20 mg de melatonina al día [70].

Resultados

No se consiguió una respuesta completa en ningún paciente (Figura 28). Sin embargo, 36% de los pacientes pertenecientes al grupo tratado con melatonina (5 de 14) lograron una respuesta parcial, y solo un 13% (2/16 pacientes) del otro grupo la obtuvieron. Además, el porcentaje de regresión tumoral fue mayor en el grupo que incluía la melatonina (aunque sin significación estadística). De esta forma, la tasa de control de la enfermedad era mejor bajo el tratamiento con melatonina respecto a la terapia única con CPT-11 (12/14 (86%) vs 7/16 (44%), con una $p < 0,05$) [70].

Así, este estudio demuestra que la melatonina también ejerce su efecto sobre el irinotecan, potenciando su eficacia en los pacientes con cáncer colorrectal. Como uno de los efectos secundarios más importantes fue la diarrea (Figura 29), se disminuyó la dosis de CPT-11 a la mitad (en lugar de administrar 125 mg/m^2 , se redujo a 70 mg/m^2) para intentar disminuir su toxicidad. De esta forma, se vio que, incluso a la mitad de dosis, el irinotecan era igual de efectivo en el control de la enfermedad [70].

Clinical response ⁺	CPT-11 (n = 16)	CPT-11 + MLT (n = 14)
CR	0	0
PR	2	5
SD	5	7
PD	9	2
Disease-control (PR + SD)	7/16 (44%)	12/14 (86%)*

* p < 0.05 v.s. CPT-11

⁺CR: complete response; PR: partial response;
SD: stable disease; PD: progressive disease.

Figura 28. Respuesta clínica en pacientes con cáncer de colon tratados solo con CPT-11 o CPT-11 + melatonina [70].

Toxicities	CPT-11 (n = 16)	CPT-11 + MLT (n = 14)
Diarrhoea		
– grade 1-2	3	2
– grade 3-4	6	4
Nausea and vomiting grade 1-2	4	3
Asthenia	3	1
Leukopenia grade 1-2	3	2
Thrombocytopenia grade 1-2	1	0
Anemia grade 1-2	2	1

Figura 29. Principales toxicidades observadas en los pacientes del estudio bajo tratamiento con CPT-11 único o CPT-11+ melatonina [70].

En el año 2005, el **Dr. Persson** llevó a cabo un estudio, pero esta vez para estudiar el **impacto del uso de melatonina (sola o en combinación con el aceite de pescado)** en **pacientes con caquexia diagnosticados de cáncer gastrointestinal** [67].

Se reclutaron a 24 pacientes diagnosticados de cáncer gastrointestinal con pérdida de peso o disminución de albúmina plasmática. Un grupo de pacientes recibieron, por azar, en un periodo de 4 semanas, 30 mL/día de aceite de pescado que contenía 4,9 g de ácido eicosapentanoico y 3,2 g de ácido docosahexanoico. El otro grupo recibiría 18 mg/dl/día de melatonina. Se realizaron varias evaluaciones y una nueva intervención de 4 semanas [67].

Se llevaron a cabo análisis a los pacientes, en los cuales se midió: factor de necrosis tumoral α , IL- 1- β , SIL-2R, IL-6, IL-8 y ácidos grasos eicosapentanoico, docosahexanoico, ácido araquidónico y ácido linoleico.

Los niveles séricos de ácido eicosapentanoico y docosahexanoico aumentaron con el tratamiento de aceite de pescado. En este mismo grupo, el 38% de los pacientes mostraron una estabilización, incluso ganancia, en el peso comparado con un 27% de pacientes en el grupo de melatonina. No hubo apenas cambios en el resto de variables analizadas [67].

Resultados

En resumen, el aceite de pescado, la melatonina o su combinación no producen una acción anticaquética importante. Sin embargo, sí controla el peso en estos pacientes (Figuras 30,31,32 y 33) [67].

Reference values		Baseline		Baseline to period 1		Periods 1 to 2		Baseline to period 2	
		FO (n = 13)	MLT (n = 11)	FO (n = 11)	MLT (n = 9)	FO (n = 10)	MLT (n = 6)	FO (n = 10)	MLT (n = 6)
B-Hb	Women: 115–151 g/L Men: 133–167 g/L	126 (87–163)	113 (82–144)	−3.3	−0.8	−6.1	−6.0	−8.2*	−0.9
S-Alb	37–48 g/L	39 (27–48)	34 (27–40)	−2.4	−2.9	−2.9	−5.1	−2.4	+2.6
S-LDH	3.8–6.7 μ kat/L	6.9 (4.6–16.4)	8.6 (4.4–40)	+8.7	+32.5	−2.7	+10.5	+3.9	+18.0
S-CRP	0–10 mg/L	22.5 (10–124)	63 (10–229)	+11.7	+62.0	+8.3	+22	\pm 0.0	\pm 0.0
P-Fibrin	2.0–3.6 g/L	4.8 (3.1–8.7)	6.1 (3.2–8.4)	+8.5	−1.9	−7.9	−0.4	−3.4	−9.4
TNF- α	NA	4.6 (2.1–16.4)	6.8 (3.7–12.1)	−2.3	\pm 0	+13.0	+4.3	+22.5	−6.7
IL-1 β	NA	0.125 (0.125–2.36)	0.25 (0.125–1.18)	\pm 0.0	\pm 0.0	\pm 0.0	\pm 0.0	\pm 0.0	+23.2
sIL-2r	NA	1992 (1408–6375)	3699 (1814–6129) [†]	+5.0	−1.8	+17.8	−4.4	+23.0	−14.0
IL-6	NA	4.7 (1.5–7.6)	4.9 (1.4–18.9)	−5.3	+10.0	+6.0	+17.7	+17.9	\pm 0.0
IL-8	NA	31.2 (31.2–240)	80.7 (31.2–309)	\pm 0.0	+21.9	\pm 0.0	\pm 0.0	\pm 0.0	+9.4

B-Hb, blood hemoglobin; FO, fish oil; IL-1 β , interleukin-1 β ; IL-6, interleukin-6; IL-8, interleukin-8; MLT, melatonin; NA, not applicable; P-fibrin, plasma fibrinogen; S-Alb, serum albumin; S-CRP, serum C-reactive protein; sIL-2R, soluble interleukin-2 receptor; S-LDH, serum lactate dehydrogenase; TNF- α , tumor necrosis factor- α

* Statistically significant changes across assessment I to III within groups, $P = 0.01$.

[†] Statistically significant difference between groups, $P = 0.02$.

Figura 30. Resultados del estudio en los 24 pacientes a los que se administró aceite de pescado o melatonina [67].

	Baseline		Assessment II		Assessment III		Reference values [†]
	FO	MLT	FO	MLT	FO	MLT	
Linoleic acid (18:2 ω -6)	17.7 (2.4)	19.0 (2.4)	13.9 (3.7)	20.5 (2.8)	14.1 (4.5)	14.9 (3.0)	23.4 (2.6)
AA (20:4 ω -6)	7.8 (1.9)	6.5 (1.7)	7.1 (1.3)	6.0 (1.8)	7.0 (2.0)	6.0 (0.5)	7.9 (1.0)
EPA (20:5 ω -3)	1.3 (0.5)	1.2 (1.0)	6.0 [‡] (3.5)	1.0 (0.4)	7.2 (5.2)	7.9 [‡] (3.5)	1.5 (0.5)
DHA (22:6 ω -3)	4.4 (1.3)	3.6 (0.9)	6.3 [‡] (1.9)	3.4 (1.1)	6.0 (2.5)	4.8 (2.4)	4.7 (0.9)

AA, arachidonic acid; DHA, docosahexaenoic acid; EPA, eicosapentaenoic acid; FO, fish oil; MLT, melatonin

* Values are mean (standard deviation).

[†] Values are for healthy subjects [18].

[‡] Statistically significant difference between groups, $P \leq 0.001$.

[§] Statistically significant change between assessments II and III, $P = 0.006$.

Figura 31. Distribución de ácidos grasos en suero como porcentaje del total de ácidos grasos al inicio del estudio y en las evaluaciones I y II [67].

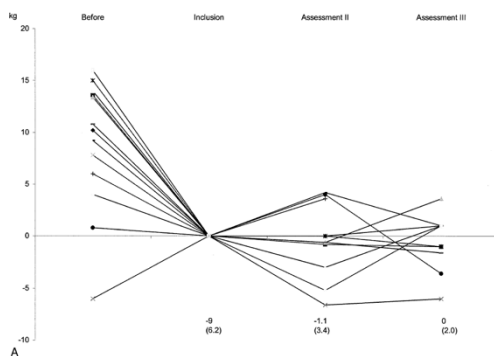


Figura 32. Cambios en el peso antes de la inclusión en el estudio, durante la inclusión hasta la primera evaluación y desde ésta a la segunda en el grupo tratado con aceite de pescado [67].

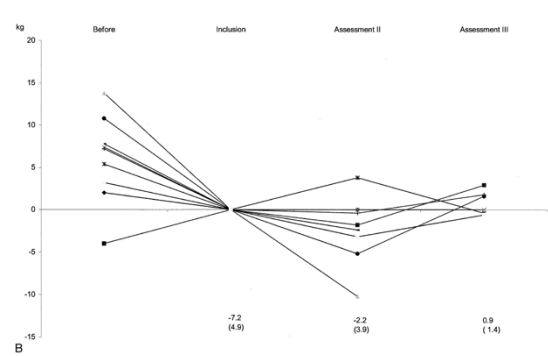


Figura 33. Cambios en el peso antes de la inclusión en el estudio, durante la inclusión hasta la primera evaluación y desde ésta a la segunda en el grupo tratado con melatonina [67].

Hasta ahora, hemos visto que la melatonina ejerce su acción antitumoral mediante tres mecanismos: acción citostática directa, estimulación de la respuesta inmune antitumoral del paciente (a través de la estimulación de la producción de IL-2 en las células dendríticas) y por medio de la modulación de la expresión de oncogenes [51]. Además, como vimos anteriormente, la melatonina es capaz de contrarrestar la activación del receptor de VEGF, el cual desempeña un papel fundamental en la proliferación tumoral y en el desarrollo de metástasis [68]. Otra particularidad de la melatonina es su capacidad

antioxidante, especialmente contra la toxicidad generada por la quimioterapia [69]. De este modo, se ha comprobado que esta acción antioxidante puede, también, aumentar la acción citotóxica de la quimioterapia [63], potenciando la eficacia de ésta, tanto en la tasa de regresión tumoral como en la tasa de supervivencia.

Así, en el año 2007, el **Dr. Lissoni** nuevamente realizó un ensayo clínico en el que comparó el tratamiento con **bioquimioterapia (quimioterapia estándar más la hormona melatonina) en el tratamiento de neoplasias sólidas avanzadas** [71].

El estudio constaba de 370 pacientes diagnosticados de cáncer avanzado. Se repartieron en dos grupos, uno de ellos recibiría quimioterapia sola y el otro una combinación de quimioterapia y melatonina. La elección de los fármacos quimioterápicos se realizó en función del tipo tumoral, el estatus clínico y los tratamientos anteriores. En cuanto a la dosis de melatonina, se empleó 20 mg/día administrada sobre las 20:00 h, todos los días, hasta que se observase progresión tumoral. El tratamiento con melatonina se comenzó una semana antes del inicio con quimioterapia [71].

Resultados

Se observó, que el grupo tratado con bioquimioterapia (Figura 34) alcanzó una respuesta completa de la enfermedad en 12 pacientes y una respuesta parcial en 56. En cambio, en el otro grupo, que únicamente recibió quimioterapia, solo se consiguió una respuesta completa en 5 y una respuesta parcial en 32 pacientes. De esta forma, la tasa de respuesta en el grupo tratado con quimioterapia y melatonina fue considerablemente mayor que en el otro grupo (68/187 (36%) vs. 37/183 (20%), respectivamente con una $p < 0,001$) [71].

Igualmente, la curva de supervivencia a dos años (tal como muestra la Figura 35) fue superior en los pacientes pertenecientes al grupo que incluía la melatonina en su tratamiento (47/187 (25%) vs. 24/183 (13%), respectivamente, con una $p < 0,05$) [71]. Teniendo en cuenta los efectos secundarios provocados por la quimioterapia, se comprobó que el tratamiento con melatonina conseguía reducir la tasa de trombocitopenia, neurotoxicidad, astenia y caquexia en estos pacientes [71].

Tumor histotype ^(#)	Chemotherapy ^(*)						Chemotherapy + Melatonin					
	N	CR	PR	CR + PR (%)	SD	DC (%)	N	CR	PR	CR + PR (%)	SD	DC (%)
<i>NSCLC</i>												
CDDP + VP-16	58	1	10	11 (19%)	15	26 (45%)	59	4	17	21 (36%) ^a	23	44 (75%) ^b
CDDP + GEM	16	1	4	5 (31%)	6	11 (69%)	14	2	5	7 (50%)	5	12 (86%)
<i>Colorectal cancer</i>												
OXA + 5-FU/FA	24	2	6	8 (33%)	10	18 (75%)	26	4	11	15 (58%) ^a	8	23 (88%)
CPT-11	18	0	3	3 (18%)	5	8 (44%)	16	0	5	5 (31%)	6	11 (69%)
5-FU/FA	33	0	4	4 (12%)	9	13 (39%)	35	1	7	8 (23%)	14	22 (63%)
<i>Gastric cancer</i>												
PELF	15	1	3	4 (27%)	5	9 (60%)	16	1	6	7 (44%)	5	12 (75%)
5-FU/FA	19	0	2	2 (11%)	5	7 (37%)	21	0	5	5 (24%)	8	13 (62%)
Total	183	5	32	37 (20%)	55	92 (50%)	187	12	56	68 (36%) ^b	69	137 (73%) ^b

[#] CDDP = Cisplatin; VP-16 = Etoposide; GEM = Gemcitabine; OXA = Oxaliplatin; 5-FU = 5-fluorouracile; FA = Folinic Acid; PELF = Cisplatin + Epirubicin + Leucovorin + 5-FU; ^{*} CR = complete response; PR = partial response; SD = stable diseased; DC = disease control.

^a $p < 0.05$ vs. chemotherapy alone.

^b $p < 0.01$ vs. chemotherapy alone.

Figura 34. Respuesta clínica en 370 pacientes diagnosticados de cáncer avanzado, tratados con quimioterapia o quimioterapia más melatonina [71].

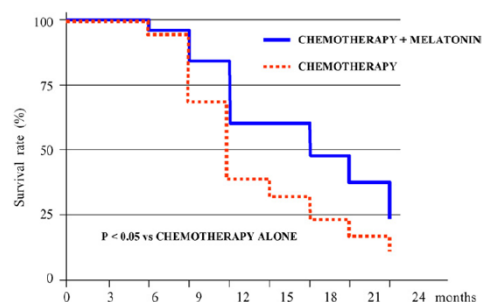


Figura 35. Curva de supervivencia a 2 años en pacientes con cáncer avanzado tratados con quimioterapia o quimioterapia más melatonina [71].

Por tanto, una vez más se constató que la administración concomitante de melatonina y tratamiento quimioterápico en pacientes con cáncer avanzado logra mejorar la eficacia de la quimioterapia y reducir su toxicidad. Asimismo, las acciones antitumorales de la melatonina consiguen mejorar tanto las tasas de supervivencia, como de progresión de la enfermedad, y se ha descubierto que, además, esta mejoría es superior si se administra concomitantemente con otro tratamiento anticancerígeno (como quimioterapia) respecto a la administración aislada de la hormona pineal [62, 71].

Uno de los efectos secundarios provocados por el tratamiento con radioterapia o quimioterapia en pacientes con cáncer es la linfocitopenia [75, 76], asociada, además, a un peor pronóstico tanto en supervivencia como en respuesta a otros tratamientos [72, 73, 74]. Para combatirla, se utiliza el principal factor de crecimiento linfocitario, la IL-2 [77]. Del mismo modo, se ha visto que la proliferación linfocitaria no depende únicamente de la actividad de citocinas, sino que la melatonina puede desarrollar algún papel, como potenciador [49], al estimular la liberación de IL-2 por linfocitos T helper, los cuales expresan el receptor de melatonina [78]. Sin embargo, la melatonina no es la única hormona secretada por la glándula pineal capaz de llevar a cabo este desarrollo linfocitario, otra hormona, la 5-metoxitriptamina (5-MTT) presenta también efectos inmunoestimuladores [79]. Además, ambas ejercen acción antioxidante, protectora contra la toxicidad producida por la irradiación radioterápica [80, 81]. Incluso, se ha demostrado que la melatonina previene el daño linfocitario provocado por la radiación mediante el aumento de los mecanismos de reparación del DNA [61].

Por ello, el siguiente estudio, llevado a cabo en 2008 por el **Dr. Lissoni** consistió en analizar la **acción biológica de la melatonina, 5-MTT y dosis bajas de IL-2 en el número de linfocitos en pacientes con cáncer tratados con radioterapia pélvica** [82].

Se reclutó a 20 pacientes diagnosticados de cáncer rectal o de cérvix, los cuales recibirían tratamiento con radioterapia en la zona pélvica. Se aleatorizaron en tres grupos, los cuales recibirían: uno de ellos melatonina sola, otro grupo melatonina + 5-MTT y el último grupo dosis bajas de IL-2. Hubo un grupo control formado por pacientes afectados por el mismo tipo tumoral que los casos [82]. En ambos grupos el tratamiento con radioterapia consistió en una dosis de 1,8 Gy diarios, recibiendo en total una dosis de 50,4 Gy. En cuanto a la melatonina, los pacientes de este grupo recibieron una dosis oral de 20 mg/día a la tarde (20:00 h aproximadamente). La 5-MTT fue dada también de forma oral, en una dosis de 1 mg/día también a la tarde, pero antes que la melatonina. Ambas

hormonas se administraron de forma diaria, comenzando 7 días antes del comienzo de la radioterapia. El grupo tratado con IL-2 recibió una dosis subcutánea de 3 MUI/ día [82]. Para evaluar el nivel linfocitario en sangre, se realizaron análisis de control a todos los pacientes e, igualmente, se midieron los niveles de linfocitos T helper (CD4), determinante en la inmunidad antitumoral [77][82].

Resultados

En primer lugar, se observó que el número de linfocitos y linfocitos CD4 en los pacientes tratados con radioterapia era más bajo respecto a los niveles basales. Sin embargo, se observó que solamente en el grupo tratado con IL-2 se produjo un recuento linfocitario > 1000/mm³ tras el tratamiento (p<0,001). Además, el descenso en este grupo fue más bajo que en el resto de los grupos (Figuras 36 y 37) [82]. Por otro lado, se produjo una reducción significativa en el número de CD4 en el grupo control y en los grupos que incluía melatonina y melatonina + 5-MTT en su tratamiento, pero, aunque en el grupo que recibió IL-2 también descendieron los niveles de CD4, esto no fue estadísticamente significativo respecto a los valores basales previos a la radioterapia (Figuras 38 y 39) [82].

Patients +	Percent
Controls	1/40 (3%)
Uterine cervix	0/22
Rectal carcinoma	1/18 (6%)
MLT	0/8
MLT + 5-MTT	0/6
IL-2	5/6 (83%)*

*p<0.001 vs. Controls. MLT=melatonin; 5-MTT= 5-methoxytryptamine; IL-2= interleukin-2.

Figura 36. Porcentaje de pacientes con recuento linfocitario > 1000/mm³ al final del tratamiento con radioterapia [82].

Patients	Percent of decline (X±SE)
Controls	75±4%
Rectal cancer	76±6%
Cervical cancer	73±5%
MLT	69±6%
MLT+5-MTT	65±8%
IL-2	36±5% *

*p<0.001 vs. Controls; p<0.025 vs. MLT; p<0.05 vs. MLT + 5-MTT.

Figura 37. Descenso en el número de linfocitos en pacientes con cáncer tratados con radioterapia (RT) sola como control, RT + melatonina (MLT), RT + MLT + 5-MTT o RT + IL-2 [82].

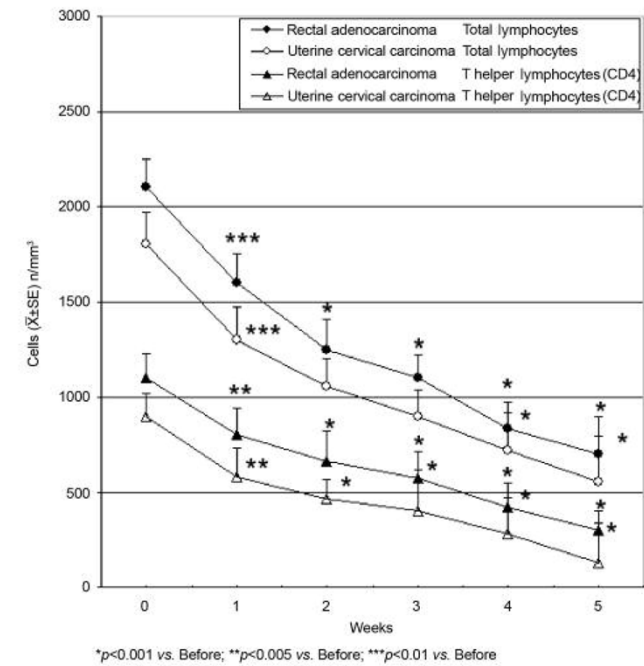


Figura 38. Cambios en el número total de linfocitos y linfocitos T helper (CD4) tras el tratamiento, únicamente, radioterápico en pacientes con cáncer rectal y de cervix (50,4 Gy) [82].

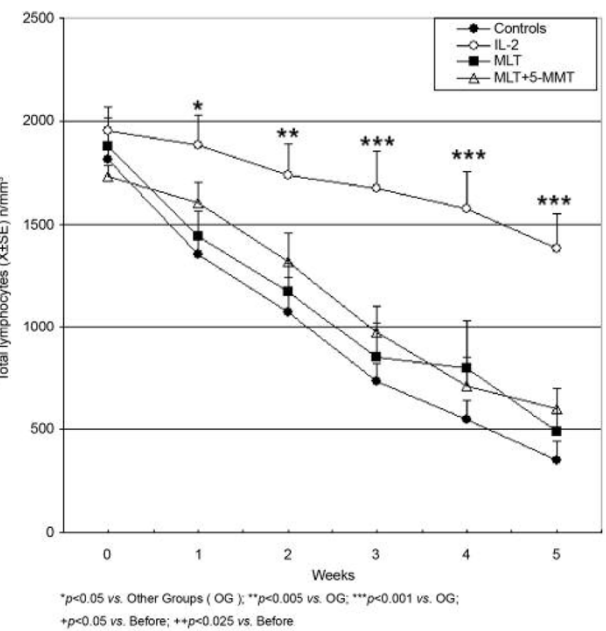


Figura 39. Cambios en el número total de linfocitos en pacientes tratados con RT sola, como control, en el grupo tratado con RT + MLT, RT + MLT + 5-MTT o RT + IL-2 [82].

Así pues, la IL-2 ha sido la única terapia capaz de reducir la linfopenia producida por la radioterapia, tanto en el número total de linfocitos como en el recuento de CD4. En cuanto al resto, las terapias biológicas con melatonina o 5-MTT no han demostrado ser eficaces en la prevención de esta linfopenia, aunque ya se vio que éstas solo son eficaces a dosis muy altas (>30 veces la dosis empleada en este estudio) [61]. Independientemente de esto, la melatonina puede potenciar la acción y eficacia antitumoral de la IL-2 y amplificar la proliferación linfocitaria [83] (como se ha explicado anteriormente).

Como veníamos diciendo hasta ahora, el fallo de muchos tratamientos antitumorales se debe a que, estos mismos tratamientos provocan una disminución en la respuesta inmune del paciente, incapaz de defenderse contra la agresión tumoral. Se sabe que este fallo en la inmunidad antitumoral es debido a un aumento inesperado en el número de linfocitos $CD4^{+}$ (también llamados, linfocitos T reguladores) los cuales representan las células principales en la supresión de esta inmunidad mediante la liberación de citokinas inmunosupresoras [85, 86, 87, 88]. De esta forma, la inhibición de estos linfocitos $CD4^{+}$ puede suponer un gran mecanismo inmunoterápico antitumoral [84]. Algunas hormonas o moléculas pueden ejercer esta acción, entre ellas la IL-2 y la IL-12 [89, 90]. En cuanto a la melatonina, los principales efectos inmunológicos frente al cáncer son la potenciación de la secreción de IL-2, a través del receptor de melatonina presente en los linfocitos T helper [78] y mediante la inhibición de la respuesta supresora mediada por macrófagos [91].

Por todo esto, el doctor **Luigi Vigore** quiso estudiar en el año 2010 el **efecto de la melatonina tanto *in vitro* como *in vivo* sobre los linfocitos T reguladores** [84].

Para el estudio *in vivo* sobre el efecto de la melatonina, se seleccionó a 20 pacientes con cáncer metastásico. Se administró una dosis de melatonina oral de 20 mg/día diaria durante al menos 3 meses [84].

Por otro lado, para el estudio llevado a cabo *in vitro*, se investigó el efecto que produciría la melatonina en cultivos de células T reguladoras (tanto en el número como en el porcentaje). Se aislaron células mononucleares sanguíneas de muestras venosas procedentes de voluntarios sanos, en los que se administró 10 pg/ml de melatonina y 100 pg/ml correspondiente a sus concentraciones fisiológicas en sangre durante el período de luz y oscuridad, respectivamente [49, 84].

Resultados

Referente a la progresión de la enfermedad, solo se consiguió la respuesta parcial en 1 paciente, el control de la enfermedad se obtuvo en 11/20 pacientes, mientras que el resto progresó [84].

Ahora bien, en cuanto al número de linfocitos T-reguladores (Figuras 40 y 41), antes del tratamiento con melatonina se objetivó un recuento linfocitario alto en 9/20 pacientes. Tras el tratamiento con ésta, se consiguió la normalización de los niveles de linfocitos sanguíneos en 4/9 de estos pacientes con nivel alto al comienzo [84].

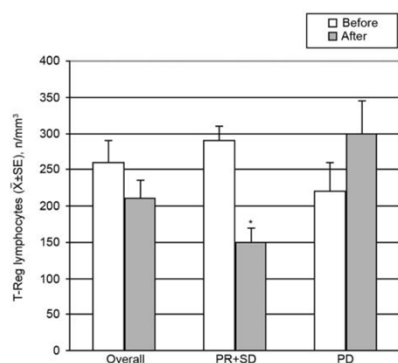


Figura 40. Efecto de 20 mg/día de melatonina en el número de linfocitos T-reguladores en pacientes con cáncer avanzado en base a su respuesta terapéutica. PR+SD: respuesta parcial + control de la enfermedad. PD: progresión tumoral. * $p < 0,025$ comparando los valores al inicio y al final de la terapia [84].

	T-regs (Mean±SE)	
	n/mm ³	%
Control medium	219±24	9±2
MLT 10 pg/ml	216±26	9±3
MLT 100 pg/ml	208±19	8±2

Figura 41. Número de linfocitos T-reguladores y porcentaje del total de linfocitos tras incubación y tratamiento con melatonina o en el control [84].

Además, el porcentaje de normalización fue mayor en pacientes que presentaron control de la enfermedad respecto a los pacientes que progresaron ($p < 0,001$), donde, incluso, aumentaron [84]. En el estudio *in vitro*, se vio que la melatonina no ejerció efecto alguno sobre el número de linfocitos T-reguladoras respecto al control [84].

Por tanto, la melatonina puede interaccionar *in vivo* con el recuento de linfocitos T-reguladores y puede estar asociado al control de la enfermedad neoplásica. Sin embargo, *in vitro*, la melatonina no parece que ejerza ninguna influencia. Esto lleva a pensar que la melatonina pueda ejercer este efecto inhibitorio mediante mecanismos indirectos: a través de la interacción con los macrófagos, evitando la estimulación que éstos provocan sobre la producción linfocitaria [84]. A favor de esto último, algunos estudios demuestran que la melatonina es capaz de inhibir la inmunosupresión provocada por los macrófagos en la inmunidad antitumoral [91]. Por último, como el efecto de la quimioterapia depende, en parte, de la supresión de los linfocitos T-reguladores [92], la melatonina puede ayudar a ésta favoreciendo una mayor inhibición [84].

En el año 2012, se llevó a cabo un **meta-análisis con el fin de estudiar la acción de la melatonina como adyuvante al tratamiento con quimioterapia** [93]. Por ello, este meta-análisis quiere investigar tanto la supervivencia y progresión de la enfermedad como la tolerabilidad del tratamiento quimioterápico en adyuvancia con la melatonina [94].

Para realizarlo se seleccionaron 21 ensayos clínicos que aplicaban el tratamiento con melatonina junto a otro tratamiento antitumoral, ya fuese quimioterapia o radioterapia, por ejemplo [94]. Exceptuando un estudio, que se llevó a cabo en China, el resto de los ensayos clínicos se realizaron en Italia o Polonia, por el mismo grupo de investigadores [94]. Se analizó la supervivencia a 1 año, la respuesta y/o progresión de la enfermedad y, además, la presencia y severidad de efectos adversos [94].

Resultados

Se observó (Figura 42) que tanto la supervivencia a 1 año, como la respuesta y el control de la enfermedad fueron mayores en los grupos que incluían melatonina en su tratamiento. Además, se vio que el tratamiento concomitante con melatonina disminuía el número de efectos secundarios provocados por los tratamientos antitumorales, como la alopecia, la anemia, astenia... [94].

En conclusión, se comprobó que la melatonina ejerce un efecto positivo sobre los pacientes con cáncer avanzado, tanto en tasas de supervivencia como de progresión de la enfermedad, y ahora también se vio en relación con los efectos secundarios. Además, el efecto beneficioso era independiente del tipo tumoral, para los cuales la melatonina ejercía el mismo efecto [94]. Sin embargo, el inconveniente de este estudio era que la mayoría de los ensayos clínicos fueron realizados por el mismo grupo de investigadores [94].

Por tanto, la melatonina interviene en la actividad tanto estrogénica como androgénica, actúa como inmunomodulador, inhibiendo la progresión tumoral. También actúa como antiangiogénico y ejerce un papel antioxidante. En determinados tipos tumorales, la melatonina disminuye la captación del ácido linoleico, previniendo así la formación de metabolitos mitógenos y la formación de factores proangiogénicos. Igualmente, desempeña una función antitumoral directa, a través de su participación en el ciclo celular, bloqueando a las células en la fase G, además de aumentar la expresión de moléculas supresoras de tumores, como son p53 y p21 [94]. La melatonina, como hemos comentado anteriormente, también lleva a cabo actividades potenciadoras del sistema inmune, aumentando la secreción de algunas citokinas, como la IL-2, o mediante la activación de linfocitos o células natural killer [94].

	Number of Trials	RR	CI (lower)	CI (higher)	P (inconsistency)	Kendall's τ	Egger Test
Outcomes in all studies							
One-year survival in all studies	13 ^{19,24,27,29,31,33-35}	0.63	1.82	3.46	77.1%	0.56	1.87
Complete response	12 ^{18-21,23,24,26,28,29,31-33}	2.33	1.29	4.20	0	-0.85*	-0.48
Partial response	16 ^{18-21,23,24,26,28-33,35}	1.90	1.43	2.51	28%	0.27	1.12
Stable disease	12 ^{18-21,23,24,26,28,29,31,33}	1.51	1.08	2.12	83.9%	0.30	-0.10
Alopecia	6 ^{19,23,28,31,32,35}	0.86	0.75	0.97	0	-0.47 (low power)	-0.44
Anemia	10 ^{17-19,23-25,28,31,32}	0.83	0.71	0.97	0	-0.64** (low power)	-0.46**
Asthenia	13 ^{17-20,23-25,28,30-32}	0.44	0.39	0.50	0	-0.18	-0.84**
Thrombocytopenia	11 ^{17,19,20,23,25,28,30-32}	0.21	0.15	0.30	0	0.09	-0.68**
Outcomes in studies with chemotherapy							
One-year mortality	8 ^{19,20,23,24,29,31,33,34}	0.60	0.54	0.67	59.8%	0.64 (low power)	2.12**
Complete response	10 ^{18-20,23,24,28,29,31-33}	2.53	1.36	4.71	0	-0.68	-0.22
Partial response	12 ^{18-20,23,24,28-33}	1.70	1.37	2.12	2.5	0.36	0.94
Stable disease	9 ^{18-20,23,24,28-33}	1.15	1.00	1.33	0	-0.05 (low power)	-0.21
Alopecia	5 ^{19,23,28,31,32}	0.87	0.76	1.01	0	-0.8 (low power)	-0.4
Anemia	9 ^{17-19,23-25,28,31,32}	0.71	0.47	1.07	0	-0.67** (low power)	-0.75**
Asthenia	12 ^{17-20,23-25,28,30-32}	0.45	0.38	0.53	0	-0.15	-1.13**
Cardiac symptoms	2 ^{17,25}	1.03	0.16	6.65	—	—	—
Diarrhea	8 ^{17-19,23-25,31,32}	0.74	0.54	1.00	0	0.27 (low power)	-0.05
Fever	3 ^{17,24,25}	0.63	0.19	2.08	—	—	—
Leucopenia	5 ^{18,19,23,31,32}	0.65	0.43	0.97	0	0.2 (low power)	-0.70
Nausea, vomiting	6 ^{18,19,23,24,31,32}	0.84	0.72	0.97	0	-0.52 (low power)	-0.32
Thrombocytopenia	10 ^{17,19,20,23,25,28,30-32}	0.17	0.11	0.27	0	0.11** (low power)	-0.31
Hypotension	4 ^{17,25,30}	0.21	0.10	0.47	15.1%	1	2.73**

Abbreviations: RR, risk ratio; CI, confidence interval.

*The dashes refer to cases with too few strata to conduct a robust evaluation. *P < .001; **P < .05.

Figura 42. Resultados del meta-análisis [94].

Entre los diferentes tipos tumorales, el cáncer de mama es uno de los más frecuentes, además de presentar una mortalidad elevada [95]. Se ha postulado su asociación con la luz artificial durante la noche (LAN), aumentando el riesgo de cáncer de mama a medida que aumenta la exposición a LAN [96], al disminuir la secreción de melatonina por parte de la glándula pineal [97]. Además, se ha visto que la melatonina puede, incluso, inhibir la proliferación tumoral mamaria en ratas, al suprimir los estrógenos, que actúan sobre la proliferación de estas células tumorales *in vitro* [98].

Teniendo en cuenta esta asociación, el Dr. Wan-Shui Yanga, llevó a cabo un **meta-análisis acerca de la posible relación o asociación entre el riesgo de cáncer de mama, las horas de sueño, los niveles de melatonina y la LAN** [99].

El meta-análisis contenía estudios los cuales analizaban la relación entre la exposición nocturna a la luz (LAN), las horas de sueño, los niveles de melatonina y el riesgo de cáncer de mama (Figuras 43) [99].

Resultados

References	Region	Design	No. of cases	No. of controls/ cohort size	Exposure	Study quality	Matched or adjusted variables
Sleep duration and breast cancer							
Girschik <i>et al.</i> (2013)	Australia	PCC	1205	1789	Self-reported sleep hours	7	A E H M P O
Wu <i>et al.</i> (2013)	Singapore	CS	820	34 028	Self-reported sleep hours	9	A B M O
Kakizaki <i>et al.</i> (2008)	Japan	CS	143	23 995	Self-reported sleep hours	7	A B E M S P O
McElroy <i>et al.</i> (2006)	USA	PCC	4033	5314	Self-reported sleep hours	8	A B E M O
Pinheiro <i>et al.</i> (2006)	USA	CS	4233	77 418	Self-reported sleep hours	7	A B E M S P O
Verkasalo <i>et al.</i> (2005)	Finland	CS	242	12 222	Self-reported sleep hours	8	A B E S P
LAN and breast cancer							
Davis <i>et al.</i> (2001)	USA	PCC	813	793	Ambient and artificial LAN in bedroom	8	A E H O
O'Leary <i>et al.</i> (2006)	Long Island	PCC	576	585	Artificial LAN in bedroom	7	A O
Li <i>et al.</i> (2010)	USA	PCC	363	356	Ambient and artificial LAN in bedroom	8	A B E S O
Kloog <i>et al.</i> (2011)	Israel	PCC	794	885	Ambient and artificial LAN in bedroom	7	A E O
Bauer <i>et al.</i> (2013)	Georgia	CC ^a	34 053	14 458	Artificial LAN in bedroom	2	A S O
Melatonin and breast cancer							
Wu <i>et al.</i> (2013)	Singapore	NCC	248	743	24-h spot urinary aMT6s	9	A B M O
Travis <i>et al.</i> (2004)	British Isles	NCC	127	353	24-h urinary aMT6s	8	A B M O
Schemhammer and Hankinson (2005)	USA	NCC	147	291	First spot morning urinary aMT6s	8	B E M O
Schemhammer <i>et al.</i> (2008)	Italy	NCC	178	710	12-h overnight urinary aMT6s	9	A B E M O
Schemhammer and Hankinson (2009)	USA	NCC	357	533	First spot morning urinary aMT6s	8	B E M O
Schemhammer <i>et al.</i> (2010)	Italy	NCC	180	683	12-h overnight urinary aMT6s	9	A B E M S O

A, age; B, BMI; CC, case-control study; CS, cohort study; E, ethanol-related conditions; H, hormone replacement therapy; LAN, light at night; M, menopausal status; NCC, nested case-control studies; O, others; P, physical activity; PCC, population-based case-control study; S, smoking.

^aThe controls in this study were lung cancer patients.

Figura 43. Características de los estudios incluidos en el meta-análisis [99]

- Exposición a LAN y cáncer de mama: se diferenció entre LAN artificial (cualquier luz presente en la habitación mientras se duerme) y LAN ambiental (iluminación que penetra en la habitación, en todas las direcciones, pero que no tiene un punto de emisión concreto) [99].
 - o Exposición a LAN artificial: se vio un aumento del riesgo de cáncer de mama en relación a esta exposición (RR = 1.17, 95% IC: 1.11-1.23)(Figuras 44 y 45) [99].
 - o Exposición a LAN ambiental: RR = 0,91, 95% IC: 0,78-1,07 (Figuras 44 y 45) [99].

- Horas de sueño y cáncer de mama: el RR para el cáncer de mama fue de 1 (95% IC: 0,995–1,01), es decir, no había una relación significativa entre las horas de sueño y el riesgo tumoral (Figuras 44 y 46) [99].
- Niveles urinarios de 6-sulfatoxymelatonina y cáncer de mama: el aumento de ésta está asociado a una reducción del riesgo de cáncer de mama, aproximadamente del 14% (RR =0,86, 95% IC: 0,78–0,95) (Figuras 44 y 47)[99].

	No. of studies	Summary RR (95% CI)	Q-statistic	P-value for heterogeneity	I ² (%)
Sleep duration					
1 h per night increase	6	1.00 (0.995–1.01)	2.66	0.752	0
Highest vs. lowest levels in each study	6	0.96 (0.77–1.19)	10.99	0.052	54.5
Study design					
Case-control study	2	1.00 (0.99–1.01)	0.14	0.711	0
Cohort study	4	1.00 (0.99–1.01)	2.52	0.472	0
Sleep hours					
< 6 h	5	1.07 (0.92–1.24)	3.61	0.307	16.8
6–7 h	3	0.96 (0.90–1.05)	2.61	0.271	23.5
7–8 h	5	1 (referent)	–	–	–
8–9 h	4	1.09 (0.97–1.23)	5.21	0.157	42.5
> 9 h	4	0.85 (0.57–1.25)	9.89	0.020	69.7
Menopausal status					
Yes	4	1.03 (0.92–1.16)	3.03	0.387	1.0
No	4	1.07 (0.80–1.42)	2.28	0.516	0
Study region					
Asia	3	1.00 (0.99–1.01)	0.22	0.896	0
Europe plus USA	3	1.00 (0.99–1.01)	2.35	0.309	14.9
Urinary 6-sulfatoxymelatonin levels					
15 ng/mg creatinine increase	5	0.86 (0.78–0.95)	7.47	0.113	46.4
Highest vs. lowest levels in each study	6	0.71 (0.61–0.83)	6.87	0.231	27.2
Menopausal status					
Yes	2	0.81 (0.70–0.92)	0.53	0.768	0
No	2	1.20 (0.91–1.59)	0.64	0.424	0
Cancer type					
Invasive breast cancer	3	0.84 (0.74–0.94)	1.12	0.571	0
In-situ breast cancer	1	0.54 (0.37–0.78)	NA	NA	NA
Light exposure at night ^a					
Artificial light in bedroom	5	1.17 (1.11–1.23)	5.09	0.405	1.9
Ambient light in bedroom	3	0.91 (0.78–1.07)	2.26	0.520	0

CI, confidence interval; RR, relative risk.

^aArtificial light in bedroom was defined as an electric or man-made light exposure in the bedroom while sleeping; ambient light in bedroom was defined as a general illumination that comes from all directions into a bedroom that has no visible source, which is in contrast to directional artificial light in bedroom.

Figura 44. Resultados del RR e IC al 95% para el cáncer de mama asociado a LAN, horas de sueño y niveles de melatonina [99].

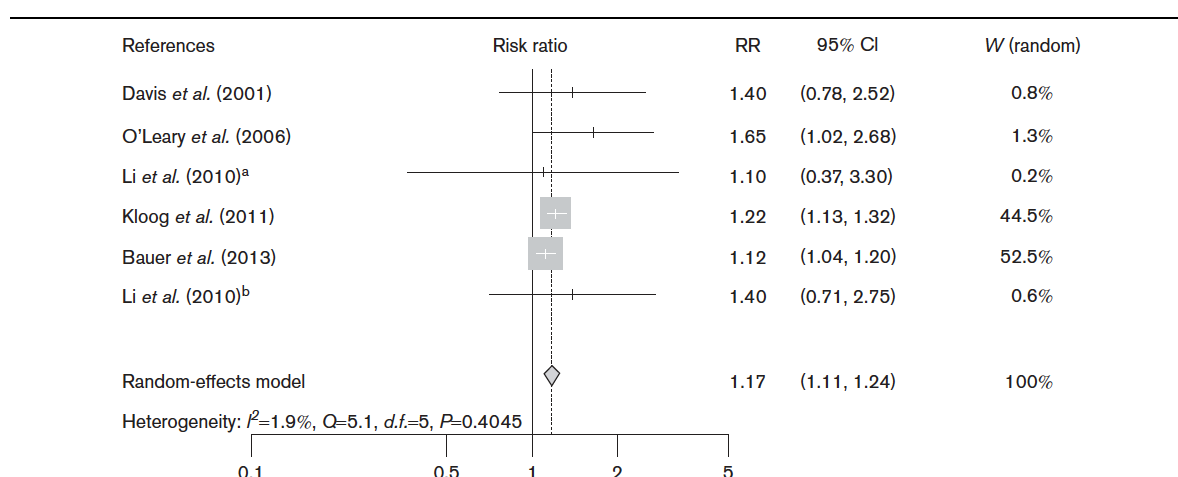


Figura 45. Riesgo relativo estimado (intervalos de confianza al 95%) de cáncer de mama y exposición a luz artificial durante la noche. Los cuadros corresponden a las estimaciones de los diferentes estudios, las líneas horizontales representan los intervalos de confianza al 95% y los diamantes las estimaciones resumidas con los diferentes intervalos de confianza al 95% [99].

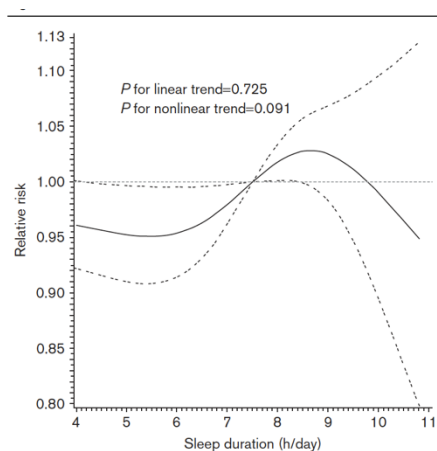


Figura 46. Relación dosis-respuesta entre las horas de sueño y el riesgo de cáncer de mama. La línea continua y discontinua representan los riesgos relativos estimados y el intervalo de confianza al 95% [99].

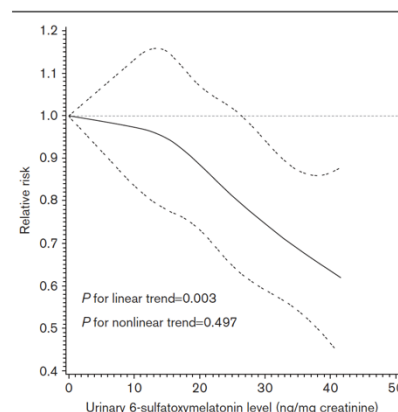


Figura 47. Relación dosis-respuesta entre los niveles urinarios de 6-sulfatoxymelatonina y el riesgo de cáncer de mama. La línea continua y discontinua representan los riesgos relativos estimados y el intervalo de confianza al 95% [99].

En resumen, se vio que la duración del sueño no parece estar asociado con el riesgo de cáncer de mama, mientras que los niveles urinarios de 6-sulfatoxymelatonina están directamente relacionados con la reducción del riesgo tumoral. Además, la exposición nocturna a luz artificial aumenta hasta en un 17% el riesgo de cáncer de mama [99]. Esto se explica por la secreción, por parte de la glándula pineal, de melatonina, dependiente del ciclo luz-oscuridad [100]. La exposición nocturna a luz puede disminuir los niveles circulantes de melatonina en sangre, aumentando el riesgo de cáncer de mama. Esto se comprobó en una meta-análisis realizado en 2013 [101], en el que se vio que las mujeres con trabajo a turnos nocturno presentaban un riesgo mayor (21%) con un intervalo de confianza al 95% de 1-1,47. Por otro lado, la melatonina también ejerce una acción antitumoral a través de la inhibición de los niveles de estrógenos, la potenciación del sistema inmune y como hormona antioxidante [100]. Sin embargo, como se ha comentado con anterioridad, no se halló relación entre las horas de sueño y el cáncer de mama [99]. Esto contradecía, en parte, la asociación entre el cáncer de mama y los trabajos nocturnos [101], la exposición a LAN y la excreción urinaria de 6-sulfatoxymelatonina [99]. No obstante, hay muchos factores que pueden identificarse en este desacuerdo: calidad del sueño, diferentes diseños de estudio, medicamentos para dormir, consumo de alcohol... [99].

En contraposición, este estudio presenta algunas limitaciones, ya que la duración del sueño y la exposición a LAN se basa en datos subjetivos, por lo que próximos estudios deberían solventar esto [99].

En el año 2014, se realizó un ensayo clínico en el que se trató de evaluar el **efecto de la melatonina comparado con placebo en pacientes con cáncer** (principalmente de pulmón no microcítico) **para ver el efecto en la calidad de vida, la supervivencia y los efectos adversos, así como la protección del daño celular** [28].

Para su desarrollo, se incluyó a 151 pacientes los cuales se dividieron en tres grupos: uno tratado con placebo otro tratado con 10 mg de melatonina y el último con 20 mg también de ésta. Todos los pacientes recibieron, además, quimioterapia [28].

Resultados

La tasa de supervivencia general (Figura 48) fue de 7,3 meses (IC al 95% de 3,42-11,14), en el grupo tratado con placebo de 7,46 meses (IC al 95% de 3,61-9,86), los pacientes que recibieron 10 mg de melatonina lograron una tasa de 7,23 meses (IC al 95% de 3,15-10,78) y por último, los tratados con 20 mg de melatonina de 6,9 (IC al 95% de 3,45-11,96). De esta forma, no se observó diferencia alguna en cuanto a la supervivencia en los diferentes grupos. Sin embargo, la única disparidad encontrada fue que a los 22 meses del comienzo del estudio, solo los pacientes tratados con melatonina seguían vivos, siendo este número mayor en el grupo con la dosis de 20 mg [28].

Los pacientes bajo tratamiento con melatonina presentaban mejor calidad de vida (Figura 49) que el grupo placebo (puntuación total de calidad de vida 9,5 puntos mayor en el grupo con melatonina respecto al placebo, con IC al 95% entre 2,97-21,97 y una $P=0,134$) [28].

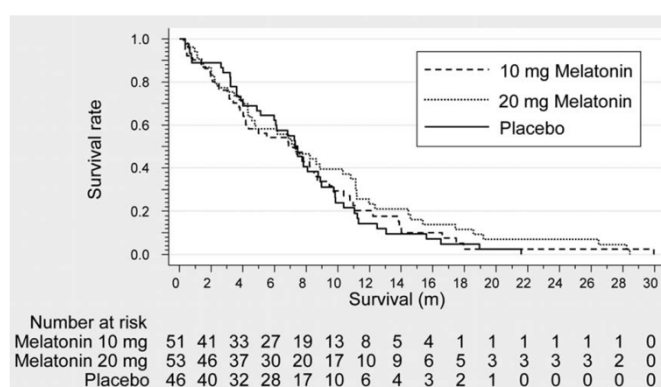


Figura 48. Gráfica de Kaplan-Meier de supervivencia global para pacientes tratados con placebo, 10 mg de melatonina y 20 mg de melatonina [28].

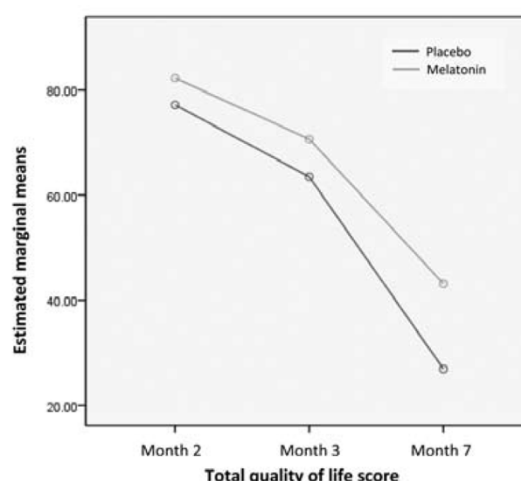


Figura 49. Puntuación en la calidad de vida de los pacientes con el estudio [28].

En cuanto a los efectos adversos, no se halló diferencias entre los diferentes grupos [28]. Para analizar el daño celular se midieron los niveles urinarios de 8-oxo-2'-desoxiguanosina (un marcador de daño de DNA). Solo en el grupo placebo se vieron niveles altos de este marcador, asociado con una disminución de la supervivencia [28].

Por tanto, en este estudio se vio que el tratamiento con melatonina provocaba una mejoría en la calidad de vida de los pacientes comparado con el placebo [28]. Por el contrario, y respecto a lo comentado anteriormente, se observó que el tratamiento concomitante de quimioterapia y melatonina no mejora la supervivencia ni reduce los efectos adversos de ésta, pudiendo ser esto debido a subtipos tumorales más agresivos o a un tratamiento quimioterápico menos agresivo que en otros estudios [28].

Siguiendo con el estudio de la melatonina como tratamiento de los efectos adversos provocados por los tratamientos antitumorales, en el año 2018, el **Dr. Habibi y su grupo** [66] examinó la **acción de ésta sobre el recuento celular plasmático en pacientes con cáncer rectal tras tratamiento con radioterapia.**

Se realizó, de esta forma, un ensayo clínico que reunió a 60 pacientes con cáncer rectal, los cuales se dividieron en dos grupos: un grupo control, tratado con placebo y otro grupo que recibiría una dosis de 20 mg de melatonina diaria durante 28 días [66].

Resultados

El recuento celular sanguíneo se realizó antes y después de los tratamientos en los dos grupos (Figura 50) [66].

Blood cells	Drug status	Mean \pm SEM	Confidence interval	p value
Platelets	Before placebo	261.8 \pm 14.31	– 103.7 to – 29.47	0.0007
	After placebo	195.2 \pm 11.80		
	Before melatonin	257.4 \pm 20.05	0.7852 to 88.35	0.52
	After melatonin	239.8 \pm 18.42		
Neutrophil	Before placebo	4.096 \pm 0.4297	– 2.272 to – 0.3601	0.008
	After placebo	2.780 \pm 0.2036		
	Before melatonin	4.115 \pm 0.1007	– 1.161 to 0.6001	0.51
	After melatonin	3.834 \pm 0.4130		
WBC	Before placebo	7.626 \pm 0.5638	– 3.545 to – 0.5288	<0.0001
	After placebo	4.290 \pm 0.4380		
	Before melatonin	7.900 \pm 0.5165	– 3.752 to – 0.8702	0.002
	After melatonin	5.589 \pm 0.4970		
RBC	Before placebo	4.467 \pm 0.09058	– 0.6236 to – 0.08011	0.01
	After placebo	4.115 \pm 0.1007		
	Before melatonin	4.552 \pm 0.1093	– 0.6257 to 0.005010	0.05
	After melatonin	4.241 \pm 0.113		
Lymphocyte	Before placebo	3.640 \pm 0.2302	– 2.703 to – 1.389	<0.0001
	After placebo	1.594 \pm 0.2244		
	Before melatonin	3.430 \pm 0.2236	– 1.917 to – 0.6429	0.0002
	After melatonin	2.150 \pm 0.2265		

Figura 50. Recuento celular plasmático en pacientes tratados con placebo y melatonina, antes y después de la terapia [66].

Con estos resultados se observó que la melatonina es capaz de disminuir la destrucción celular provocada por la radioterapia, ya que se vio que el número de células sanguíneas era ligeramente mayor en el grupo tratado con melatonina respecto al control. Sin embargo, no se halló diferencia en el recuento de la serie roja en ningún grupo [66].

Otro de los efectos adversos provocados por la radioterapia en pacientes con cáncer de cabeza y cuello es la mucositis oral. Se ha postulado que ésta puede ser producida por radicales libres de oxígeno resultado de la radioterapia [103, 104]. Además, actualmente no hay un tratamiento eficaz para combatirlo, por lo que, basándonos en el efecto antioxidante de la melatonina, ésta podría ser un buen método terapéutico [102]. De esta forma, el objetivo del siguiente ensayo clínico fue indagar sobre la **acción protectora de la melatonina en estos pacientes frente al desarrollo de mucositis oral tras tratamiento radioterápico** [102].

Se reclutaron a 40 pacientes diagnosticados de cáncer de cabeza y cuello los cuales iban a recibir radioterapia (dosis de 60-70 Gy). Estos pacientes fueron distribuidos aleatoriamente en dos grupos, uno el cual sería tratado con fármacos para sus síntomas (antifúngicos, anestésicos, antiinflamatorios...), mientras que el otro grupo recibiría una dosis de 10 mg de melatonina diaria [102].

Para evaluar la respuesta, se analizó la severidad de la mucositis, el dolor producido por ésta y la capacidad antioxidante total, analizada en muestras salivares tomadas a todos los pacientes [102].

Resultados

Se observó que el 90% de los pacientes pertenecientes al grupo tratado con melatonina mantuvo una mucositis de carácter leve. Sin embargo, el grupo control pasó de mucositis poco severa a alcanzar un alto grado de severidad. Igualmente, los pacientes del grupo con melatonina presentaban menos dolor respecto al grupo control ($5,25 \pm 1,97$ vs $7,55 \pm 1,77$, respectivamente) (Figura 51). Por el contrario, en cuanto a la capacidad antioxidante medida en la saliva de los pacientes (Figura 52), se vio que el grupo control mostraba niveles más bajos ($p=0,004$) [102].

Por tanto, se comprobó que la melatonina asociada podría combatir el grado o la severidad de la mucositis oral tras el tratamiento con radioterapia, además de disminuir las lesiones orales y el dolor producido por éstas en los pacientes [102].

	Test (n = 20)	Control (n = 20)	p Value
NRS: Mean \pm SD			
1st assessment	4.85 \pm 1.66	5.25 \pm 2.84	.59 ^a
2nd assessment	5.25 \pm 1.97	7.55 \pm 1.77	<.001 ^{a,*}
p Value	0.33 ^b	0.11 ^b	
% change: Mean \pm SD	19.42 \pm 60.69	37.14 \pm 53.33	.28 ^c

^aStudent's t test.

^bPaired t test.

^cMann-Whitney U test.

*Statistically significant at p value \leq .05.

Figura 51. Cambios respecto a la escala de dolor en los pacientes del estudio [102].

	Test (n = 20)	Control (n = 20)	p Value (MWU)
TAC: Mean \pm SD			
Before	1.18 \pm 0.42	1.10 \pm 0.41	.53
After	1.01 \pm 0.28	0.81 \pm 0.37	.04*
p Value	0.15 ^a	0.004 ^{a,*}	

Abbreviation: MWU, Mann-Whitney U test.

^aWilcoxon Sign Rank test.

*Statistically significant at p value \leq .05.

Figura 52. Cambios en la capacidad antioxidante medida en las muestras salivares antes y después de 6 semanas de tratamiento con radioterapia [102].

CONCLUSIONES

- La melatonina es una de las principales hormonas secretadas por la glándula pineal, la cual desarrolla diversas funciones, principalmente la sincronización de los ritmos circadianos en función del ciclo luz/oscuridad.
- Algunas de las acciones llevadas a cabo por la melatonina son de carácter anticancerígeno, capaz de actuar a distintos niveles en el control de la proliferación tumoral.
- Son muchos los autores que han descrito la participación de la melatonina sobre numerosos tipos tumorales, y su posible papel en la prevención del cáncer, mediante el desarrollo de múltiples ensayos clínicos en los que se estudiaba la implicación de ésta y los efectos que ocasionaba.
- Revisando todos estos artículos en los que se empleaba la melatonina como tratamiento único o adyuvante con otras terapias en cánceres avanzados, podemos concluir que el tratamiento con melatonina produce en la mayoría de los casos:
 - Aumento de la supervivencia en aquellos pacientes cuyo tratamiento incluía melatonina.
 - Aumento del periodo libre de progresión.
 - Mejora del estado general respecto al previo.
 - Disminución de los efectos secundarios provocados por otros tratamientos antitumorales, como la quimioterapia o radioterapia.
 - Mejora de la calidad de vida respecto al tratamiento paliativo.
 - Disminución del efecto supresor de los quimioterápicos sobre el sistema inmune y, de esta manera, potenciación de la respuesta inmune antitumoral.
 - Control de la tasa de progresión de la enfermedad, e incluso, en algunos casos, consigue una respuesta parcial o completa.
 - Potenciación del efecto de la IL-2 (considerada el principal factor de crecimiento linfocitario que inhibe a los linfocitos $CD4^+$, los cuales producen una supresión de la inmunidad tumoral mediante la liberación de citokinas inmunosupresoras) en diversos tumores, donde su efecto por sí sola era débil.
 - Disminución de los niveles de VEGF en aquellos pacientes que presentaban cierto control de la enfermedad, suprimiendo de esta manera la acción angiogénica tumoral.
 - Acción antioxidante, la cual elimina las ROS producidas por la quimioterapia o la radioterapia, disminuyendo los efectos secundarios de estas terapias. Además, se ha comprobado que esta acción antioxidante puede potenciar la acción citotóxica de los fármacos quimioterápicos, mejorando el pronóstico en los pacientes.
 - En el cáncer de mama, la exposición nocturna a luz puede disminuir los niveles circulantes de melatonina en sangre, aumentando el riesgo de cáncer de mama. El tratamiento con melatonina puede regular esta

diacronía. Además, la melatonina presenta una acción antiestrogénica, inhibiendo los niveles de estrógenos gonadales y neutralizando sus efectos sobre el tejido mamario. También actúa directamente sobre el tejido tumoral como modulador selectivo de los receptores de estrógenos, alterando la señal de síntesis estrogénica hacia valores similares al tejido mamario normal.

- Disminuye la captación de ácido linoleico, previniendo la formación de metabolitos mitógenos y la formación de factores proangiogénicos.
- A pesar de que todos los ensayos clínicos realizados hasta ahora reconocen a la melatonina como posible tratamiento en pacientes con cánceres avanzados, tanto por prolongar la supervivencia, como mejorar la calidad de vida de estos pacientes, al disminuir también los efectos secundarios de la quimioterapia o radioterapia, su incorporación a la práctica clínica diaria aún está restringida.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] : Amaral F. G. D., & Cipolla-Neto J. (2018). A brief review about melatonin, a pineal hormone. *Archives of endocrinology and metabolism*, 62(4), 472-479.
- [2] : Cardinali D. P., Jordá Catalá JJ., & Sánchez-Barceló, EJ. (1994). Introducción a la Cronobiología: Fisiología de los ritmos biológicos. Servicio de publicaciones de la *Universidad de Cantabria* 1994, Caja Cantabria.
- [3] : Macchi M. M., & Bruce J. N. (2004). Human pineal physiology and functional significance of melatonin. *Frontiers in neuroendocrinology*, 25(3-4), 177–195.
- [4]: Cipolla-Neto J1, Amaral FGD. Melatonin as a Hormone: New Physiological and Clinical Insights. *Endocr. Rev.* 2018; 39(6):990-1028.
- [5]: Carrascal, L., Nunez-Abades, P., Ayala, A., & Cano, M. (2018). Role of melatonin in the inflammatory process and its therapeutic potential. *Current Pharmaceutical Design*, 24(14), 1563-1588.
- [6] Emens, J. S., & Burgess, H. J. (2015). Effect of Light and Melatonin and Other Melatonin Receptor Agonists on Human Circadian Physiology. *Sleep medicine clinics*, 10(4), 435–453.
- [7] Reiter, R. J., Mayo, J. C., Tan, D. X., Sainz, R. M., Alatorre-Jimenez, M., & Qin, L. (2016). Melatonin as an antioxidant: under promises but over delivers. *Journal of pineal research*, 61(3), 253–278.
- [8] Li, T., Jiang, S., Lu, C., Yang, W., Yang, Z., Hu, W., Xin, Z., & Yang, Y. (2019). Melatonin: Another avenue for treating osteoporosis?. *Journal of pineal research*, 66(2), e12548.
- [9] D Mediavilla, M., J Sanchez-Barcelo, E., X Tan, D., Manchester, L., & J Reiter, R. (2010). Basic mechanisms involved in the anti-cancer effects of melatonin. *Current medicinal chemistry*, 17(36), 4462-4481.
- [10] Erren, T. C., & Reiter, R. J. (2009). Defining chronodisruption. *Journal of pineal research*, 46(3), 245–247.
- [11] Lissoni, P., Barni, S., Crispino, S., Tancini, G., & Fraschini, F. (1989). Endocrine and immune effects of melatonin therapy in metastatic cancer patients. *European Journal of Cancer and Clinical Oncology*, 25(5), 789-795.
- [12] Del Rio B, García Pedrero JM., Martínez-Campa C, Zuazua P, Laso PS, Ramos S. Melatonin, an endogenous-specific inhibitor of estrogen receptor alpha via calmodulin. *J. Biol. Chem.* 2004; 279(37): 38294-38302

- [13] Macias M, Escames G, Leon J, Coto A, Sbihi Y, Osuna A, Acuña-Castroviejo D. Calreticulin-melatonin. An unexpected relationship. *Eur. J. Biochem.* 2003; 270 (5): 832-840.
- [14] Lissoni, P., Barni, S., Cattaneo, G., Tancini, G., Esposti, G., Esposti, D., & Frascini, F. (1991). Clinical results with the pineal hormone melatonin in advanced cancer resistant to standard antitumor therapies. *Oncology*, 48(6), 448–450.
- [15] Lissoni, P., Barni, S., Ardizzoia, A., Paolorossi, F., Crispino, S., Tancini, G., Tisi, E., Archili, C., De Toma, D., & Pipino, G. (1992). Randomized study with the pineal hormone melatonin versus supportive care alone in advanced nonsmall cell lung cancer resistant to a first-line chemotherapy containing cisplatin. *Oncology*, 49(5), 336–339.
- [16] Gonzalez, R., Sanchez, A., Ferguson, J. A., Balmer, C., Daniel, C., Cohn, A., & Robinson, W. A. (1991). Melatonin therapy of advanced human malignant melanoma. *Melanoma research*, 1(4), 237-243.
- [17] Lissoni, P., Tisi, E., Barni, S., Ardizzoia, A., Rovelli, F., Rescaldani, R., ... & Maestroni, G. J. M. (1992). Biological and clinical results of a neuroimmunotherapy with interleukin-2 and the pineal hormone melatonin as a first line treatment in advanced non-small cell lung cancer. *British journal of cancer*, 66(1), 155-158.
- [18] Grimm, E. A., Mazumder, A., Zhang, H. Z., & Rosenberg, S. (1982). Lymphokine-activated killer cell phenomenon. Lysis of natural killer-resistant fresh solid tumor cells by interleukin 2-activated autologous human peripheral blood lymphocytes. *The Journal of experimental medicine*, 155(6), 1823-1841.
- [19] Rosenberg, S. A., Lotze, M. T., Muul, L. M., Chang, A. E., Avis, F. P., Leitman, S., ... & White, D. E. (1987). A progress report on the treatment of 157 patients with advanced cancer using lymphokine-activated killer cells and interleukin-2 or high-dose interleukin-2 alone. *New England Journal of Medicine*, 316(15), 889-897.
- [20] Ardizzoni, A., Baldini, E., Bonavia, M. & 8 others (1990). Studio di fase II con interleuchina-2 ricombinante (rIL-2) in infusione continua nei tumori polmonari non a piccole cellule. *Tumori*, 76 (Suppl. 1), 151.
- [21] Krigel, R., Lynch, E., Kucuk, O., Tester, W., Chang, A., & Bonomi, F. (1991). Interleukin-2 (IL-2) therapies prolong survival in metastatic non-small cell lung cancer (NSCLC). In *Proc Am Soc Clin Oncol* (Vol. 10, p. 246).
- [22] Minuto, F., Del Monte, P., Barreca, A., Alama, A., Cariola, G., & Giordano, G. (1988). Evidence for autocrine mitogenic stimulation by somatomedin-C/insulin-like growth factor I on an established human lung cancer cell line. *Cancer research*, 48(13), 3716-3719.
- [23] Lamberts, S.W.J. (1987). Clinical use of somatostatin analogues. *Acta Endocrinol.*, 116 (Suppl. 286), 9.

- [24] Smythe, G. A., Stuart, M. C., & Lazarus, L. (1974). Stimulation and suppression of somatomedin activity by serotonin and melatonin. *Experientia*, 30(11), 1356-1357
- [25] Hill, S. M., & Blask, D. E. (1988). Effects of the pineal hormone melatonin on the proliferation and morphological characteristics of human breast cancer cells (MCF-7) in culture. *Cancer research*, 48(21), 6121-6126.
- [26] Maestroni, G. J., Conti, A., & Pierpaoli, W. (1986). Role of the pineal gland in immunity: circadian synthesis and release of melatonin modulates the antibody response and antagonizes the immunosuppressive effect of corticosterone. *Journal of neuroimmunology*, 13(1), 19-30.
- [27] Maestroni, G. J. M., Conti, A., Lissoni, P., Archili, C., Cattaneo, G., Tancini, G., & Barni, S. (1990). Neuroendocrine strategy with the pineal hormone melatonin (MLT) to enhance the antitumor activity interleukin-2 (IL-2). *European Journal of Cancer and Clinical Oncology*, 26(2), 194.
- [28] Sookprasert, A., Johns, N. P., Phunmanee, A., Pongthai, P., Cheawchanwattana, A., Johns, J., ... & Jitpimolmard, S. (2014). Melatonin in patients with cancer receiving chemotherapy: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Anticancer Research*, 34(12), 7327-7337.
- [29] Lissoni, P., Tisi, E., Brivio, F., Barni, S., Rovelli, F., Perego, M., & Tancini, G. (1991). Increase in soluble interleukin-2 receptor and neopterin serum levels during immunotherapy of cancer with interleukin-2. *European Journal of Cancer and Clinical Oncology*, 27(8), 1014-1016.
- [30] Lissoni, P., Barni, S., Ardizzoia, A., Tancini, G., Conti, A., & Maestroni, G. (1994). A randomized study with the pineal hormone melatonin versus supportive care alone in patients with brain metastases due to solid neoplasms. *Cancer*, 73(3), 699-701.
- [31] Lissoni, P., Barni, S., Tancini, G., Ardizzoia, A., Ricci, G., Aldeghi, R., ... & Maestroni, G. (1994). A randomised study with subcutaneous low-dose interleukin 2 alone vs interleukin 2 plus the pineal neurohormone melatonin in advanced solid neoplasms other than renal cancer and melanoma. *British journal of cancer*, 69(1), 196-199.
- [32] Lissoni, P., Barni, S., Ardizzoia, A., Brivio, F., Tancini, G., Conti, A. G. J. M. M., & Maestroni, G. J. (1992). Immunological effects of a single evening subcutaneous injection of low-dose interleukin-2 in association with the pineal hormone melatonin in advanced cancer patients. *Journal of biological regulators and homeostatic agents*, 6(4), 132-136.
- [33] Lissoni, P., Barni, S., Rovelli, F., Brivio, F., Ardizzoia, A., Tancini, G., ... & Maestroni, G. J. M. (1993). Neuroimmunotherapy of advanced solid neoplasms with single evening subcutaneous injection of low-dose interleukin-2 and melatonin: preliminary results. *European Journal of Cancer*, 29(2), 185-189.

- [34] Lissoni, P., Meregalli, S., Nosetto, L., Barni, S., Tancini, G., Fossati, V., & Maestroni, G. (1996). Increased survival time in brain glioblastomas by a radioneuroendocrine strategy with radiotherapy plus melatonin compared to radiotherapy alone. *Oncology*, 53(1), 43–46.
- [35] Koff, W. C., & Dunegan, M. A. (1985). Modulation of macrophage-mediated tumoricidal activity by neuropeptides and neurohormones. *The Journal of Immunology*, 135(1), 350-354.
- [36] Lissoni, P., Tisi, E., Brivio, F., Ardizzoia, A., Crispino, S., Barni, S., ... & Maestroni, G. J. (1991). Modulation of interleukin-2-induced macrophage activation in cancer patients by the pineal hormone melatonin. *Journal of biological regulators and homeostatic agents*, 5(4), 154-156.
- [37] Lissoni, P., Meregalli, S., Fossati, V., Barni, S., Tancini, G., Barigozzi, P., & Frigerio, F. (1993). Radioendocrine therapy of brain tumors with the long acting opioid antagonist naltrexone in association with radiotherapy. *Tumori Journal*, 79(3), 198-201.
- [38] Ehrke, M. J., Mihich, E., Berd, D., & Mastrangelo, M. J. (1989, June). Effects of anticancer drugs on the immune system in humans. In *Seminars in oncology* (Vol. 16, No. 3, pp. 230-253).
- [39] Maestroni, G. J., Conti, A., & Pierpaoli, W. (1988). Pineal melatonin, its fundamental immunoregulatory role in aging and cancer. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 521(1), 140-148.
- [40] Maestroni, G. J., Conti, A., & Lissoni, P. (1994). Colony-stimulating activity and hematopoietic rescue from cancer chemotherapy compounds are induced by melatonin via endogenous interleukin 4. *Cancer research*, 54(17), 4740-4743.
- [41] Reiter, R. J., Melchiorri, D., Sewerynek, E., Poeggeler, B., Barlow-Walden, L., Chuang, J., ... & AcuñaCastroviejo, D. (1995). A review of the evidence supporting melatonin's role as an antioxidant. *Journal of pineal research*, 18(1), 1-11.
- [42] Cos, S., & Blask, D. E. (1994). Melatonin modulates growth factor activity in MCF-7 human breast cancer cells. *Journal of pineal research*, 17(1), 25-32.
- [43] Lissoni, P., Paolorossi, F., Ardizzoia, A., Barni, S., Chillelli, M., Mancuso, M., ... & Maestroni, G. J. M. (1997). A randomized study of chemotherapy with cisplatin plus etoposide versus chemoendocrine therapy with cisplatin, etoposide and the pineal hormone melatonin as a first-line treatment of advanced non-small cell lung cancer patients in a poor clinical state. *Journal of pineal research*, 23(1), 15-19.
- [44] Neri, B., de Leonardis, V., Gemelli, M. T., di Loro, F., Mottola, A., Ponchietti, R., Raugeri, A., & Cini, G. (1998). Melatonin as biological response modifier in cancer patients. *Anticancer research*, 18(2B), 1329–1332.

- [45] Lissoni, P., Barni, S., Mandala, M., Ardizzioia, A., Paolorossi, F., Vaghi, M., ... & Tancini, G. (1999). Decreased toxicity and increased efficacy of cancer chemotherapy using the pineal hormone melatonin in metastatic solid tumour patients with poor clinical status. *European Journal of Cancer*, 35(12), 1688-1692.
- [46] Morishima, I., Matsui, H., Mukawa, H., Hayashi, K., Toki, Y., Okumura, K., ... & Hayakawa, T. (1998). Melatonin, a pineal hormone with antioxidant property, protects against adriamycin cardiomyopathy in rats. *Life sciences*, 63(7), 511-521.
- [47] Lissoni P, Barni S, Paolorossi F, et al. Chemotherapy with 5- uorouracil and folates versus chemoendocrinotherapy with 5-uorouracil, folates and the pineal hormone melatonin in advanced gastrointestinal tract tumor patients of poor clinical status. *Acta Gerontol* 1997, 47, 21±24.
- [48] Lissoni, P., Barni, S., Brivio, F., Rossini, F., Fumagalli, L., & Tancini, G. (1995). Treatment of cancer-related thrombocytopenia by low-dose subcutaneous interleukin-2 plus the pineal hormone melatonin: a biological phase II study. *Journal of biological regulators and homeostatic agents*, 9(2), 52-54.
- [49] Maestroni, G. J. (1993). The immunoneuroendocrine role of melatonin. *Journal of pineal research*, 14(1), 1-10.
- [50] Brzezinski, A. (1997). Melatonin in humans. *New England journal of medicine*, 336(3), 186-195.
- [51] Regelson, W., & Pierpaoli, W. (1987). Melatonin: a rediscovered antitumor hormone? Its relation to surface receptors; sex steroid metabolism, immunologic response, and chronobiologic factors in tumor growth and therapy. *Cancer investigation*, 5(4), 379-385.
- [52] Lissoni, P., Viviani, S., Bajetta, E., Buzzoni, R., Barreca, A., Mauri, R., ... & Fraschini, F. (1986). A clinical study of the pineal gland activity in oncologic patients. *Cancer*, 57(4), 837-842.
- [53] Lissoni, P., Rovelli, F., Malugani, F., Bucovec, R., Conti, A., & Maestroni, G. J. (2001). Anti-angiogenic activity of melatonin in advanced cancer patients. *Neuroendocrinology Letters*, 22(1), 45-48.
- [54] Ferrara, N., Houck, K., Jakeman, L. Y. N., & Leung, D. W. (1992). Molecular and biological properties of the vascular endothelial growth factor family of proteins. *Endocrine reviews*, 13(1), 18-32.
- [55] Folkman, J. (1990). What is the evidence that tumors are angiogenesis dependent?. *JNCI: Journal of the National Cancer Institute*, 82(1), 4-7.
- [56] Lissoni, P. J. N. L. (1999). The pineal gland as a central regulator of cytokine network. *Neuroendocrinology Letters*, 20(6), 343-350.

- [57] Salven, P., Mänpää, H., Orpana, A., Alitalo, K., & Joensuu, H. (1997). Serum vascular endothelial growth factor is often elevated in disseminated cancer. *Clinical Cancer Research*, 3(5), 647-651.
- [58] Gabrilovich, D. I., Chen, H. L., Girgis, K. R., Cunningham, H. T., Meny, G. M., Nadaf, S., ... & Carbone, D. P. (1996). Production of vascular endothelial growth factor by human tumors inhibits the functional maturation of dendritic cells. *Nature medicine*, 2(10), 1093-1103.
- [59] Di Nicola, M., Anichini, A., Mortarini, R., Bregni, M., Parmiani, G., & Gianni, A. M. (1998). Human dendritic cells: natural adjuvants in antitumor immunotherapy. *Cytokines, cellular & molecular therapy*, 4(4), 265-273.
- [60] Yan, J. J., Shen, F., Wang, K., & Wu, M. C. (2002). Patients with advanced primary hepatocellular carcinoma treated by melatonin and transcatheter arterial chemoembolization: a prospective study. *Hepatobiliary & pancreatic diseases international: HBPD INT*, 1(2), 183-186.
- [61] Vijayalaxmi, Thomas Jr, C. R., Reiter, R. J., & Herman, T. S. (2002). Melatonin: from basic research to cancer treatment clinics. *Journal of Clinical Oncology*, 20(10), 2575-2601.
- [62] Lissoni, P. (2002). Is there a role for melatonin in supportive care?. *Supportive Care in Cancer*, 10(2), 110-116.
- [63] Chinery, R., Brockman, J. A., Peeler, M. O., Shyr, Y., Beauchamp, R. D., & Coffey, R. J. (1997). Antioxidants enhance the cytotoxicity of chemotherapeutic agents in colorectal cancer: a p53-independent induction of p21 WAF1/CIP1 via C/EBP β . *Nature medicine*, 3(11), 1233-1241.
- [64] Reiter, R. J., Tan, D. X., Manchester, L. C., & Qi, W. (2001). Biochemical reactivity of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species. *Cell biochemistry and biophysics*, 34(2), 232-256.
- [65] Lissoni, P., Chilelli, M., Villa, S., Cerizza, L., & Tancini, G. (2003). Five years survival in metastatic non-small cell lung cancer patients treated with chemotherapy alone or chemotherapy and melatonin: a randomized trial. *Journal of pineal research*, 35(1), 12-15.
- [66] Habibi, N. K., Monfared, A. S., Gorji, K. E., Karimi, M., Moghadamnia, A. A., Tourani, M., ... & Niksirat, F. (2019). The protective effects of melatonin on blood cell counts of rectal cancer patients following radio-chemotherapy: a randomized controlled trial. *Clinical and Translational Oncology*, 21(6), 745-752.

- [67] Persson, C., Glimelius, B., Rönnelid, J., & Nygren, P. (2005). Impact of fish oil and melatonin on cachexia in patients with advanced gastrointestinal cancer: a randomized pilot study. *Nutrition*, 21(2), 170-178.
- [68] Siu, S. W., Lau, K. W., Tam, P. C., & Shiu, S. Y. (2002). Melatonin and prostate cancer cell proliferation: interplay with castration, epidermal growth factor, and androgen sensitivity. *The Prostate*, 52(2), 106-122.
- [69] Reiter, R. J., Tan, D. X., Sainz, R. M., Mayo, J. C., & Lopez-Burillo, S. (2002). Melatonin: reducing the toxicity and increasing the efficacy of drugs. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 54(10), 1299-1321.
- [70] Cerea, G., Vaghi, M., Ardizzoia, A., Villa, S., Bucovec, R., Mengo, S., ... & Lissoni, P. (2003). Biomodulation of cancer chemotherapy for metastatic colorectal cancer: a randomized study of weekly low-dose irinotecan alone versus irinotecan plus the oncostatic pineal hormone melatonin in metastatic colorectal cancer patients progressing on 5-fluorouracil-containing combinations. *Anticancer research*, 23(2C), 1951-1954.
- [71] Lissoni, P. (2007). Biochemotherapy with standard chemotherapies plus the pineal hormone melatonin in the treatment of advanced solid neoplasms. *Pathologie Biologie*, 55(3-4), 201-204.
- [72] Riesco, A. (1970). Five-year cancer cure: Relation to total amount of peripheral lymphocytes and neutrophils. *Cancer*, 25(1), 135-140.
- [73] Maltoni, M., Pirovano, M., Nanni, O., Marinari, M., Indelli, M., Gramazio, A., ... & Labianca, R. (1997). Biological indices predictive of survival in 519 Italian terminally ill cancer patients. *Journal of pain and symptom management*, 13(1), 1-9.
- [74] Lissoni, P., Brivio, F., Fumagalli, L., Messina, G., Ghezzi, V., Frontini, L., ... & Gardani, G. S. (2004). Efficacy of cancer chemotherapy in relation to the pretreatment number of lymphocytes in patients with metastatic solid tumors. *The International journal of biological markers*, 19(2), 135-140.
- [75] Blay, J. Y., Chauvin, F., Le Cesne, A., Anglaret, B., Bouhour, D., Lasset, C., ... & Biron, P. (1996). Early lymphopenia after cytotoxic chemotherapy as a risk factor for febrile neutropenia. *Journal of Clinical Oncology*, 14(2), 636-643.
- [76] Miller, G. M., Kajioka, E. H., Andres, M. L., & Gridley, D. S. (2002). Dose and timing of total-body irradiation mediate tumor progression and immunomodulation. *Oncology Research Featuring Preclinical and Clinical Cancer Therapeutics*, 13(1), 9-18.
- [77] Morgan, D. A., Ruscetti, F. W., & Gallo, R. (1976). Selective in vitro growth of T lymphocytes from normal human bone marrows. *Science*, 193(4257), 1007-1008.

- [78] Guerrero, J. M., & Reiter, R. J. (2002). Melatonin-immune system relationships. *Current topics in medicinal chemistry*, 2(2), 167-179.
- [79] Sze, S. F., Liu, W. K., & Ng, T. B. (1993). Stimulation of murine splenocytes by melatonin and methoxytryptamine. *Journal of Neural Transmission/General Section JNT*, 94(2), 115-126.
- [80] Reiter, R., Tang, L., Garcia, J. J., & Muñoz-Hoyos, A. (1997). Pharmacological actions of melatonin in oxygen radical pathophysiology. *Life sciences*, 60(25), 2255-2271.
- [81] Sacco, S., Aquilini, L., Ghezzi, P., Pinza, M., & Guglielmotti, A. (1998). Mechanism of the inhibitory effect of melatonin on tumor necrosis factor production in vivo and in vitro. *European journal of pharmacology*, 343(2-3), 249-255.
- [82] Lissoni, P., Rovelli, F., Brivio, F., Fumagalli, L., & Brera, G. (2008). A study of immunoendocrine strategies with pineal indoles and interleukin-2 to prevent radiotherapy-induced lymphocytopenia in cancer patients. *in vivo*, 22(3), 397-400.
- [83] Conti, A., & Maestroni, G. J. (1995). The clinical neuroimmunotherapeutic role of melatonin in oncology: Mini Review. *Journal of pineal research*, 19(3), 103-110.
- [84] Vigore, L., Messina, G., Brivio, F., Fumagalli, L., Rovelli, F., Di Fede, G., & Lissoni, P. (2010). Psychoneuroendocrine modulation of regulatory T lymphocyte system: in vivo and in vitro effects of the pineal immunomodulating hormone melatonin. *in vivo*, 24(5), 787-789.
- [85] Shevach, E. M. (2002). CD4⁺ CD25⁺ suppressor T cells: more questions than answers. *Nature Reviews Immunology*, 2(6), 389-400.
- [86] Zou, W. (2006). Regulatory T cells, tumour immunity and immunotherapy. *Nature Reviews Immunology*, 6(4), 295-307.
- [87] Thornton, A. M., & Shevach, E. M. (2000). Suppressor effector function of CD4⁺ CD25⁺ immunoregulatory T cells is antigen nonspecific. *The Journal of Immunology*, 164(1), 183-190.
- [88] Baecher-Allan, C., Viglietta, V., & Hafler, D. A. (2004, April). Human CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells. In *Seminars in immunology* (Vol. 16, No. 2, pp. 89-98). Academic Press.
- [89] Whittington, R., & Faulds, D. (1993). Interleukin-2. *Drugs*, 46(3), 446-514.
- [90] Banks, R. E., Patel, P. M., & Selby, P. J. (1995). Interleukin 12: a new clinical player in cytokine therapy. *British journal of cancer*, 71(4), 655-659.
- [91] Lissoni, P., Barni, S., Tancini, G., Ardizzoia, A., Rovelli, F., Cazzaniga, M., ... & Maestroni, G. J. M. (1993). Immunotherapy with subcutaneous low-dose interleukin-2

and the pineal indole melatonin as a new effective therapy in advanced cancers of the digestive tract. *British journal of cancer*, 67(6), 1404-1407.

[92] Ghiringhelli, F., Larmonier, N., Schmitt, E., Parcellier, A., Cathelin, D., Garrido, C., ... & Martin, F. (2004). CD4+ CD25+ regulatory T cells suppress tumor immunity but are sensitive to cyclophosphamide which allows immunotherapy of established tumors to be curative. *European journal of immunology*, 34(2), 336-344.

[93] Seely, D., Wu, P., Fritz, H., Kennedy, D. A., Tsui, T., Seely, A. J., & Mills, E. (2012). Melatonin as adjuvant cancer care with and without chemotherapy: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Integrative cancer therapies*, 11(4), 293-303.

[94] Mills, E., Wu, P., Seely, D., & Guyatt, G. (2005). Melatonin in the treatment of cancer: a systematic review of randomized controlled trials and meta-analysis. *Journal of pineal research*, 39(4), 360-366.

[95] Jemal, A., Bray, F., Center, M. M., Ferlay, J., Ward, E., & Forman, D. (2011). Global cancer statistics. *CA: a cancer journal for clinicians*, 61(2), 69-90.

[96] Stevens, R. G. (1987). Electric power use and breast cancer: a hypothesis. *Am. J. Epidemiol. (United States)*, 125(4).

[97] Stevens, R. G., & Davis, S. (1996). The melatonin hypothesis: electric power and breast cancer. *Environmental health perspectives*, 104(suppl 1), 135-140.

[98] Blask, D. E., Hill, S. M., Dauchy, R. T., Xiang, S., Yuan, L., Duplessis, T., ... & Sauer, L. A. (2011). Circadian regulation of molecular, dietary, and metabolic signaling mechanisms of human breast cancer growth by the nocturnal melatonin signal and the consequences of its disruption by light at night. *Journal of pineal research*, 51(3), 259-269.

[99] Yang, W. S., Deng, Q., Fan, W. Y., Wang, W. Y., & Wang, X. (2014). Light exposure at night, sleep duration, melatonin, and breast cancer: a dose-response analysis of observational studies. *European journal of cancer prevention*, 23(4), 269-276.

[100] Brzezinski, A. (1997). Melatonin in humans. *New England journal of medicine*, 336(3), 186-195.

[101] Kamdar, B. B., Tergas, A. I., Mateen, F. J., Bhayani, N. H., & Oh, J. (2013). Night-shift work and risk of breast cancer: a systematic review and meta-analysis. *Breast cancer research and treatment*, 138(1), 291-301.

[102] Elsabagh, H. H., Moussa, E., Mahmoud, S. A., Elsaka, R. O., & Abdelrahman, H. (2020). Efficacy of Melatonin in prevention of radiation-induced oral mucositis: A randomized clinical trial. *Oral diseases*, 26(3), 566-572.

- [103] Lee, C. S., Ryan, E. J., & Doherty, G. A. (2014). Gastro-intestinal toxicity of chemotherapeutics in colorectal cancer: The role of inflammation. *World Journal of Gastroenterology*, 20(14), 3751–3761.
- [104] Ortiz, F., Acuña-Castroviejo, D., Doerrier, C., Dayoub, J. C., López, L. C., Venegas, C., ... Escames, G. (2015). Melatonin blunts the mitochondrial/NLRP3 connection and protects against radiation-induced oral mucositis. *Journal of Pineal Research*, 58(1), 34–49
- [105] Lissoni, P., Tancini, G., Paolorossi, F., Mandala, M., Ardizzoia, A., Malugani, F., ... & Barni, S. (1999). Chemoneuroendocrine therapy of metastatic breast cancer with persistent thrombocytopenia with weekly low-dose epirubicin plus melatonin: A phase II study. *Journal of pineal research*, 26(3), 169-173.
- [106] Saltz, L. B., Cox, J. V., Blanke, C., Rosen, L. S., Fehrenbacher, L., Moore, M. J., ... & Miller, L. L. (2000). Irinotecan plus fluorouracil and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *New England Journal of Medicine*, 343(13), 905-914.